

Aus dem Institut für Pathologie
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Roland Moll
des Fachbereichs Medizin der
Philipps-Universität Marburg in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum
Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg

Der Barrett-Ösophagus: Immunhistochemische Untersuchungen zu
Cytokeratinen und Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen in Bezug auf Histogenese und
Dysplasie-Karzinom-Sequenz

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Medizin
der Philipps-Universität Marburg vorgelegt

von

Sonja Fischborn

geb. Bechmann

aus Augsburg

Marburg, 2006

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am 06.04.2006

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch

Referent: Prof. Dr. R. Moll

Korreferent: Prof. Dr. G. Aumüller

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden.....	28
2.1. Material	28
2.1.1. Untersuchungsmaterial.....	28
2.1.2. Chemikalien und Ansätze für die Immunhistologie	29
2.1.3. Antikörper	30
2.2. Methoden	33
2.2.1. Gewebeaufbereitung zur immunhistochemischen Färbung.....	33
2.2.2. Avidin-Biotin-Methode.....	33
2.2.3. Auswertungsmethode der immunhistochemischen Präparate.....	36
2.2.4. Bildgebung.....	37
3. Ergebnisse	38
3.1. Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie.....	41
3.1.1. Cytokeratine im Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie	41
3.1.2. Adhäsionsmoleküle im Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie	48
3.1.3. Bildtafeln zum Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie.....	55
3.2. Low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus.....	58
3.2.1. Cytokeratine in der low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus	58
3.2.2. Adhäsionsmoleküle in der low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus	65
3.2.3. Bildtafeln zur low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus.....	72
3.3. Barrett-Karzinom	74
3.3.1. Cytokeratine im Barrett-Karzinom.....	74
3.3.2. Adhäsionsmoleküle im Barrett-Karzinom.....	81
3.3.3. Bildtafeln zum Barrett-Karzinom	85
3.4. Plattenepithel des adulten Ösophagus.....	87
3.4.1. Cytokeratine im Plattenepithel des adulten Ösophagus	87
3.4.2. Adhäsionsmoleküle im Plattenepithel des adulten Ösophagus	87
3.5. Schleimhautdrüsen des adulten Ösophagus.....	88
3.5.1. Cytokeratine 5 und 20 in ösophagealen Schleimhautdrüsen.....	88

3.5.2. Cytokeratine in gastralen Drüsen des ösophago-kardialen Übergangs.....	89
3.6. Fötaler Ösophagus.....	90
3.6.1. Cytokeratine im fötalen Ösophagus.....	90
3.6.2. Adhäsionsmoleküle im fötalen Ösophagus	92
3.6.3. Bildtafeln zum fötalen Ösophagus	93
3.7. Foveoläres Epithel der Magenschleimhaut	96
3.7.1. Cytokeratine im foveolären Epithel der Magenschleimhaut	96
3.7.2. Adhäsionsmoleküle im foveolären Epithel der Magenschleimhaut.....	100
3.8. Intestinale Metaplasie der Kardiaschleimhaut	102
3.8.1. Cytokeratine in der intestinalen Metaplasie der Kardiaschleimhaut	102
3.8.2. Adhäsionsmoleküle in der intestinalen Metaplasie der Kardiaschleimhaut.....	105
3.9. Dünndarmschleimhaut	107
3.9.1. Cytokeratine in der Dünndarmschleimhaut.....	107
3.9.2. Adhäsionsmoleküle in der Dünndarmschleimhaut.....	109
3.10. Cytokeratin 5-, Cytokeratin 6-, Cytokeratin 17-Screening	111
3.10.1. Cytokeratine und Adhäsionsmoleküle des Screenings	111
3.10.2. Bildtafel zur Screening-Untersuchung	113
3.11. Synopsis der Ergebnisse.....	114
4. Diskussion.....	116
4.1. Cytokeratin-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit Epithelien von Magen, Dünndarm, intestinaler Metaplasie, fötalem Ösophagus und adultem Ösophagus)	116
4.1.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde	116
4.1.2 Biologische Einordnung des Cytokeratinmusters des Barrettepithels	119
4.1.3. Korrelation mit der Literatur	120
4.1.4. Schlussfolgerung für Biologie und Phänotyp	127
4.1.5. Schlussfolgerungen für die Histogenese in Beziehung zu den verschiedenen existierenden Hypothesen	128

4.2. Adhäsionsmolekül-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit Epithelien von Magen, Dünndarm, intestinaler Metaplasie, fötalem Ösophagus und adultem Ösophagus)	134
4.2.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde	134
4.2.2. Biologische Einordnung der Adhäsionsmolekül-Befunde des Barrettepithels.....	136
4.2.3. Korrelation mit der Literatur	136
4.2.4. Schlussfolgerungen	139
4.3. Cytokeratin-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit low-grade Dysplasie und Adenokarzinom der Barrettmukosa).....	140
4.3.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde	140
4.3.2. Korrelation mit der Literatur	141
4.3.3. Relevanz für die Diagnostik	143
4.4. Adhäsionsmolekül-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit low-grade Dysplasie und Adenokarzinom der Barrettmukosa).....	144
4.4.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde	144
4.4.2. Korrelation mit der Literatur	145
4.4.3. Schlussfolgerung	147
5. Zusammenfassung	148
Literaturverzeichnis.....	151
Tabellenverzeichnis.....	162
Graphikverzeichnis.....	164
Bildtafelverzeichnis	166
Abkürzungsverzeichnis.....	167
Meine akademischen Lehrer.....	170
Danksagung	173

1. Einleitung

Die Refluxösophagitis / GERD

Der gering-gradige Reflux von Mageninhalt in den distalen Ösophagus gilt als physiologisch. Die gastroösophageale Refluxkrankheit, auch GERD (gastroesophageal reflux disease) abgekürzt, wird dann diagnostiziert, wenn bei aufrechter Sitzposition eine verlängerte Kontaktzeit von Mageninhalt im distalen Ösophagus mit einem $\text{pH} < 4$ über 6% der 24-h-Messzeit bei der Langzeit-pH-Metrie gemessen wird. Die gastroösophageale Refluxkrankheit scheint in nächster Zukunft eine der häufigsten gastroenterologischen Krankheiten überhaupt zu werden. Die Ursachen hierfür scheinen sowohl in der Ernährung als auch den Lebensgewohnheiten unserer westlichen Kultur zu liegen. Derzeit leiden schon etwa 30% der deutschen Bevölkerung unter gastroösophagealen Refluxsymptomen. Diese setzen sich aus Sodbrennen, retrosternalen Schmerzen, Dys-/Odynophagie und nicht-kardialen Thoraxschmerz zusammen. Ebenso können refluxassoziierte Atemwegserkrankungen wie Laryngitis, Bronchitis und Asthma in Erscheinung treten. Allerdings besteht keine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Beschwerden und dem effektiven Schweregrad der Refluxösophagitis (Vieth et al., 2000). Als Ursachen der Refluxkrankheit kommen folgende, oft auch in Kombination auftretende Faktoren in Betracht: Insuffizienz des distalen Ösophagussphinkters, erhöhter intraabdomineller Druck, Magenstase, verminderte Ösophagusmotilität, Resistenzminderung der Ösophagusschleimhaut und vermehrter duodenoösophagealer Reflux (Dodds et al., 1981). Der erste Schritt in der Diagnostik ist immer die endoskopische Abklärung der Symptomatik durch die Ösophagogastroduodenoendoskopie mit Biopsie. Im histologischen Bild erkennt man beim GERD ohne CELLO (columnar epithelium lined lower oesophagus); Elster (1978):

- Regeneratorisch verbreiterte Basalzellschicht (Basalzellhyperplasie)
- Papillanelongation
- Erhöhte Zahl von Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten
- Ektatische Papillenkappen
- Erweiterte Interzellularspalten

Die Therapie der Wahl bei Refluxösophagitis ist heute der Einsatz von Protonenpumpeninhibitoren wie z.B. Omeprazol oder Esomeprazol (Vieth et al., 2000).

Der Barrett-Ösophagus / CELLO

Der Barrett-Ösophagus ist definiert als Auskleidung des distalen Ösophagus mit spezialisiertem intestinalisiertem metaplastischem Zylinderepithel. Er ist eine Komplikation der Refluxkrankheit und gilt als Präkanzerose. Die Barrettschleimhaut wird auch als CELLO (columnar epithelium lined lower oesophagus) bezeichnet. Eine erhöhte Wahrscheinlichkeit, an einem Barrett-Syndrom zu erkranken, haben außer Patienten mit gastroösophagealem Reflux auch Patienten mit progressiver systemischer Sklerodermie, Kinder mit geistiger Behinderung, mit Ösophagusstrikturen, mit Ösophagusatresien sowie mit nasogastralen Intubationen. Der Barrett-Ösophagus ist in 90% der Fälle klinisch stumm, ansonsten gleichen die Symptome denen des gastroösophagealen Reflux. Das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt der Diagnose beträgt 57,5 Jahre, Männer sind ca. dreimal so häufig betroffen wie Frauen. Es zeigt sich keine eindeutige Wahrscheinlichkeitserhöhung für Angehörige eines Barrett-Patienten, ebenfalls an einem Barrett-Syndrom zu erkranken. Diskutiert wird aber eine genetische Disposition (Fahmy et al., 1993).

Morphologie

Früher fasste man unter dem Begriff des Barrett-Ösophagus mehrere morphologische Veränderungen mit zylinderepithelialem Charakter zusammen. Ausschlaggebend waren drei grundlegende Muster, die einzeln oder in Kombination auftreten können (Paull et al., 1976): Bei dem spezialisierten (intestinalen) Typ sind die Krypten versehen mit Becherzellen und Zylinderepithelzellen, denen allerdings der typische Bürstensaum von Enterozyten fehlt, sowie mit vereinzelt endokrinen Zellen und Panethschen Körnerzellen. Die Oberfläche ist oft villiform. Dieses spezialisierte Epithel, das auch als Barrettepithel bezeichnet wird, hat hohe Ähnlichkeit mit der

inkompletten intestinalen Metaplasie der Magenschleimhaut. Der Junctionale oder Kardial-Typ ist durch mucöse Drüsen, wie sie in der Kardial des Magens vorkommen, charakterisiert. Im dritten, dem sogenannten Fundus-Typ, finden sich spezifische Magendrüsen mit Beleg- und Hauptzellen, wie sie sonst im Fundus vorkommen. Er tritt im Vergleich zu den anderen sehr selten auf. Dagegen scheint er bei Kindern mit Barrett-Ösophagus häufiger aufzutreten. Heute dagegen versteht man unter dem eigentlichen Barrett-Ösophagus den spezialisierten Epitheltyp. Es findet sich ein schleimbildendes, villös-tubuläres Oberflächenepithel mit Becherzellen und Präbecherzellen, Bürstensaum und Drüsenhalszellen, ebenso finden sich tiefe Drüsen- bzw. Kryptenzellen. Die Becherzellen bilden neutralen Schleim sowie Sialomuzine und Sulfomuzine (Lee, 1984). In 90% der Barrettepithelien konnten neuroendokrine, argyrophile Zellen nachgewiesen werden, die immunzytochemisch am häufigsten Serotonin (82%) enthalten, entsprechend den intestinalen, enterochromaffinen Zellen. Weniger häufig fanden sich Somatostatin (54%), Sekretin (22%) und pankreatisches Polypeptid (17%) (Griffin et al., 1987). Der Barrett-Ösophagus ist nicht nur ein metaplastisches Epithel, welches man als eine unreife Metaplasie ansehen kann, sondern er wird mit Epithel, Lamina propria mit Gefäßen und zusätzlicher Muscularis mucosae neu gebildet. Es findet sich eine doppelte Muscularis mucosae (Nishimaki et al., 1991; Takubo et al., 1991).

Klinische Diagnose

Der Goldstandard der Diagnose des Barrett-Ösophagus ist die Endoskopie mit Entnahme von Probenbiopsien und anschließender histologischer Befundung. Das endoskopische Bild der Barrett-Läsion erscheint als scharf begrenzte, lachsfarbene Schleimhaut, die hyperämisch stärker gerötet, sowie ödematös verändert sein kann. Sie grenzt sich abrupt gegen das grau-weiße Plattenepithel durch Zungen oder Inseln des metaplastischem Zylinderepithels ab. Es können ebenfalls Erosionen und Pseudomembranen gefunden werden (Sjogren et al., 1983). Durch die entzündliche Infiltration und die ödematösen Veränderungen der tieferen Wandschichten und des periösophagealen Gewebes können Stenosen auftreten. In der Höhe dieser Stenosen ist die Schleimhaut oft ulzeriert. Werden Submukosa und Muscularis propria

zunehmend durch Bindegewebe ersetzt, kann die Stenose mit dem benachbarten Gewebe adhärent werden (Heitmann, 1974). Die Längenangabe des Barrett-Segmentes erfolgt in „long“ ($\geq 3\text{cm}$), „short“ ($< 3\text{cm}$) und „ultrashort“ (endoskopisch nicht sichtbar). Allerdings kann auch bei endoskopisch unauffälliger Z-Linie Barrettschleimhaut im gastroösophagealen Übergang gefunden werden.

Weiterführende Diagnostik

Ebenfalls zum Einsatz bei der Diagnostik des Barrett-Ösophagus kommen:

- Chromoendoskopie, bei der mit Hilfe von Methylenblau, Lugolscher Lösung oder Indigo-Karmin das spezialisierte Epithel des Barrett-Ösophagus besser zur Darstellung kommt und sich somit besser vom normalen Plattenepithel abhebt;
- High-Resolution-Vergrößerungsendoskopie, bei der die extrem hohe Auflösung mit Breitwandbild und 140° Optik eine detaillierte Aufsicht ermöglicht;
- Minisondensonographie, beim Vorliegen eines Barrett-Karzinoms zur Erfassung der Tumortiefenausdehnung in die Umgebung mitsamt des Lymphknotenstatus.

Molekulargenetik der Dysplasie-Karzinom-Sequenz

Als Dysplasie bezeichnet man eine atypische Zellproliferation, die noch nicht das Vollbild einer in-situ-Neoplasie aufweist. Die morphologischen Kriterien sind Zellatypien, kombiniert mit Architekturstörungen unterschiedlichen Ausmaßes. Die klinische Bedeutung liegt darin, dass sich aus ihnen das Vollbild einer in-situ-Neoplasie und schließlich auch ein invasives Karzinom entwickeln kann. Bei epithelialen Geweben, so auch dem Barrett-Ösophagus, begründet sich die formale Karzinogenese höchst wahrscheinlich in einer monoklonalen Entwicklungstheorie. Dies bedeutet, dass die Entwicklung eines Karzinoms von einer einzigen transformierten Zelle ausgeht. Durch Proliferation dieser transformierten Zelle kommt es zu Veränderungen und Ersatz des ursprünglichen normalen Epithels (Böcker et al., 1997).

Onkogene und Tumorsuppressorgene

Onkogene sind Gene, deren Expressionsprodukte wesentliche physiologische Zellfunktionen, wie Signalerkennung, Signaltransduktion und Regulation von Proliferation und Differenzierung steuern. Eine Störung der Funktion dieser Gene spielt bei der Initiation, Transformation und Progression von Tumoren eine zentrale Rolle. Diese Gene werden daher als Protoonkogene oder zelluläre Onkogene (c-onc) bezeichnet. Sie haben verschiedene Aufgaben und können in unterschiedliche Gruppen eingeteilt werden. Die Protoonkogene können für Rezeptoren für Wachstumsfaktoren, DNA-bindende Proteine und GTP-bindende Proteine kodieren. Die onkogene Wirkung tritt ein, wenn die Protoonkogene aktiviert werden. Die Aktivierungsmechanismen von Protoonkogenen sind vielfältig. Die Veränderung genetischer Information umfasst folgende Möglichkeiten: Amplifikation (Vermehrung des normalerweise pro Allel einfach vorhandenen Gens), chromosomale Translokation (Rearrangement), Punktmutationen oder die Integration einer primär nicht onkogenen Sequenz. Beim Barrett-Ösophagus mit seiner malignen Transformation spielen laut Ozawa et al. (1999) c-erb B2, H-ras, K-ras und Cyclin D1 als Onkogene eine wichtige Rolle. Bei den Tumorsuppressorgenen handelt es sich um eine Gruppe von Genen, die unter physiologischen Bedingungen die Zellproliferation hemmen. Die Proteine der Tumorsuppressorgene haben wichtige regulatorische Funktionen in Wachstum und Differenzierung von Zellen. Durch Mutationen, Deletionen oder Punktmutationen kommt es zum spezifischen Verlust von Suppressorgenloci in humanen Tumoren. Hier erwiesen sich laut Wijnhoven et al. (2001) Alterationen in p53 und p16 beim Barrett-Ösophagus als wichtige Faktoren der molekularen Veränderungen. Weiterhin scheinen Wachstumsfaktoren bzw. -rezeptoren wie TGF- α und EGFR eine wichtige Rolle in der Entartung von Epithelzellen zu spielen (Wijnhoven et al., 2001; Ozawa et al., 1999). Durch das Zusammenspiel der hier aufgeführten Faktoren kann es innerhalb der Barrett-Erkrankung zu einer Umwandlung des vorhandenen metaplastischen Epithels in Richtung Dysplasie und eventuell zur Ausbildung eines Adenokarzinoms kommen.

Dysplasien

Die Barrett-Metaplasie des Ösophagus ist eine Präkanzerose, die über dysplastische Zwischenstadien zu einem Adenokarzinom, dem Barrett-Karzinom, entarten kann. In der Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz lässt sich im Bereich der Dysplasie eine weitere Unterteilung in low-grade (leichte) und high-grade (schwere) Dysplasie vornehmen. Es ist anzunehmen, dass es in längeren Barrett-Segmenten einen positiven Zusammenhang zwischen Barrett-Länge und der Wahrscheinlichkeit der Entwicklung von Dysplasien gibt (Rudolph et al., 2000). Jedoch können auch in kurzen Barrett-Segmenten Dysplasien und Karzinome entstehen. Die allgemeinen Dysplasiekriterien berücksichtigen architektonische und zytologische Kriterien (Reid et al., 1988). Zu den architektonischen Anomalien gehören unregelmäßig geformte Drüsen mit stärkerer Verzweigung und dichter Lagerung, sowie intraluminale papilläre Epithelproliferationen und villöse Formationen an der Oberflächenzone. Zu den zytologischen Anomalien zählen zunehmende Kerngrößenschwankungen, Kerndeformierungen, Vergrößerung von Kernen und Nukleolen, höhere Kern-Plasma-Relation, Hyperchromasien und eine erhöhte Zahl atypischer Mitosen. Diagnostisch wegweisend sind bei schwächerer Vergrößerung eine stärkere Basophilie des Zytoplasmas mit verminderter Schleimbildung und mehrreihig angeordneten Kernen, die stark lumenwärts verlagert sein können. Die Diagnose einer Dysplasie kann in entzündlich veränderter Schleimhaut und in der Nähe eines Ulkus schwierig zu stellen sein. Als Differentialdiagnose sollte deshalb beachtet werden, ob die auffälligen Zellveränderungen sich bis in die Oberfläche der Schleimhaut ausbreiten oder sich nach apikal hin verlieren bzw. ausreifen. Die Ausreifung spricht gegen eine Dysplasie. Deshalb sind Kontrollbiopsien nach Entzündungsbehandlung und Abheilung der Ulzerationen zu empfehlen.

Low-grade Dysplasie

Die low-grade Dysplasie ist gekennzeichnet durch eine weitgehend erhaltene Kryptenarchitektur ohne oder mit nur leichten Distorsionen. Besonders basal können die Zellkerne der Epithelien mehrreihig liegen, aber die Kerne erreichen nicht die Zelloberfläche. Die Kerne sind vergrößert, liegen dichter als normal

und sind hyperchromatisch. Mitosen finden sich auch in oberen Drüsenabschnitten. Der Schleimgehalt der Becherzellen nimmt ab oder kann fehlen. Zur Abgrenzung der low-grade Dysplasie gegenüber nicht-neoplastischen, reaktiven Epithelveränderungen ist darauf zu achten, dass sich bei letzterer die Kernanomalien auf die unteren Drüsenabschnitte beschränken.

High-grade Dysplasie

Endoskopisch typisch für high-grade Dysplasien und Frühkarzinome sind Dyskolorationen, feingranulierte Oberflächen, kleine Erhabenheiten und Mulden, die gerade bei multifokalem Auftreten bestimmten Barrett-Segmenten ein landkartenartiges Muster verleihen. Derartige Läsionen sind ebenfalls nicht immer eindeutig von entzündlichem Gewebe zu trennen. Allerdings können low-grade Dysplasien, high-grade Dysplasien und Karzinome makroskopisch völlig unauffällig erscheinen. Deshalb sollte ein so genanntes „Mapping“ durchgeführt werden, das heißt, eine Quadrantenbiopsie in Form von je einer Probiopsie bei 12, 3, 6, und 9 Uhr im Abstand von 2 cm beginnend mit der Z-Linie. Histologisch ist bei der high-grade Dysplasie die Kryptenarchitektur stärker gestört. Es finden sich stärkere Distorsionen, Verzweigungen und Knospenbildungen von Drüsen mit intraglandulären Brückenbildungen von Epithelien und kribriforme Strukturen sowie Drüsen in Dos-à-dos-Stellung. Neben Becherzellen finden sich so genannte dystrophische Becherzellen mit retronukleären Schleimvakuolen (statt lumenwärts angeordneter Schleimvakuolen). Der Befund einer high-grade Dysplasie sollte von einem Referenzpathologen bestätigt werden (Palley et al., 1998). Besonders schwere dysplastische Veränderungen gehen in ein Adenokarzinom über (Lee, 1985), wobei sich schwere dysplastische Veränderungen oft auch in der Nachbarschaft eines Adenokarzinoms nachweisen lassen (Schmidt et al., 1985). Man kann sogar sagen, dass eine schwere Dysplasie in einer Biopsie es wahrscheinlich macht, dass der Patient bereits an einem Adenokarzinom erkrankt ist (Hamilton et al., 1987).

Das Adenokarzinom (Barrett-Karzinom) des Ösophagus

Das Adenokarzinom des Ösophagus ist ein maligner epithelialer Tumor mit glandulärer Differenzierung, der hauptsächlich aus der Barrettmukosa des unteren Drittels des Ösophagus entsteht. Das Karzinom entsteht besonders oft nahe der Übergangszone von Plattenepithel zum Zylinderepithel (innerhalb der angrenzenden 2 cm) (Nishimaki et al., 1994). Die Prävalenz eines Adenokarzinoms bei Patienten mit einem Barrett-Ösophagus wird mit 0-46,6% angegeben, im Durchschnitt ca. 10% (Iacone et al., 1983; Armstrong et al., 1992; Devesa et al., 1998). Die Inzidenz für das Adenokarzinom des Ösophagus hat sich in den Jahren zwischen 1970 und 1980 in den USA und Europa verdoppelt und steigt weiterhin pro Jahr zwischen 5% und 10% (Blot et al., 1991; Devesa et al., 1998). Sie lag Mitte der 90-er Jahre zwischen 1-4 pro 100.000 pro Jahr, was die Inzidenz für ein Plattenepithelkarzinom des Ösophagus in diesen Regionen fast überschreitet. In Afrika und Asien dagegen scheint das Adenokarzinom des Ösophagus sehr selten zu sein. Männer sind bis zu siebenmal häufiger betroffen als Frauen, die weiße Rasse hat eine höhere Inzidenz, das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung beträgt 65 Jahre (Siewert et al., 1998). Weitere Risikofaktoren für ein Adenokarzinom sind Rauchen (Gammon et al., 1997; Zhang et al., 1997) und Adipositas (Chow et al., 1998,a). Dagegen scheinen Alkohol und eine Helicobacter-pylori-Infektion das Risiko für das Adenokarzinom nicht wesentlich zu erhöhen bzw. scheint die Helicobacter-pylori-Infektion eine Art Protektion für Adenokarzinom zu sein (Chow et al., 1998,b; Sharma, 2001).

Die ersten Symptome eines Adenokarzinoms sind Dysphagie, retrosternale oder epigastrische Schmerzen und Kachexie. Anhand dieser Symptome lässt sich erkennen, dass die Diagnose Adenokarzinom meist erst sehr spät gestellt wird, wenn der Patient bis dahin noch nicht als Barrett-Patient erkannt ist und somit eine regelmäßige Kontrolle fehlt. Der endoskopische Befund eines frühen Adenokarzinoms kann sowohl als kleine polypoide adenomatöse Läsion in Erscheinung treten sowie flach bis ulzerös, erhaben oder sogar okkult (Lambert, 1999). Der häufigste endoskopische Befund eines Adenokarzinoms im vorgeschrittenen Stadium ist der einer axialen Stenose mit polypoidem Tumor im distalen Drittel des Ösophagus. Allgemein kann man sagen, dass das

Adenokarzinom des Ösophagus dem der Kardia des Magens im histologischen Bild ähnlich ist. Der histologische Befund eines Adenokarzinoms des Ösophagus kann von extrem hochdifferenzierten bis hin zu undifferenzierten Läsionen variieren. Meist zeigt es eine typische papilläre oder tubuläre, manchmal aber auch diffuse Oberfläche. Vereinzelt findet man Drüsenformationen und Siegelringzellen. Durch die Differenzierung können endokrine Zellen, Panethzellen und Plattenepithel entstehen. Das Gewebe ist meist hellzellig, z.T. auch eosinophilzellig, mit vereinzelt retronukleären Vakuolen. Die Zellkerne zeigen vereinzelte Mitosen und liegen meist stratifiziert. Es finden sich auch muzinöse Adenokarzinome, die bis zu 50% aus Muzinen bestehen. Ebenso kann es zu einem völligen Verlust an schleimbildenden Zellen kommen (Levine et al., 1989). Das den Tumor umgebende Gewebe zeigt ein Spektrum an prämaligen Epithelveränderungen von Hyperplasien, Regenerationen und Dysplasien verschiedener Stadien bis hin zum Adenokarzinoma in situ (Fenoglio-Preisner et al., 1998). Die Überlebensrate bei einem pT1 variiert von 65-80% (Menke et al., 1992).

Therapie

Überwachungsstrategie des Barrett-Ösophagus

Es ist aufgrund der Entartungstendenz des Barrett-Ösophagus eine differenzierte Überwachungsstrategie entsprechend den Empfehlungen des American College of Gastroenterology anzuwenden (Sampliner et al., 1998).

Tabelle 1.1.: Überwachungsstrategie des Barrett-Ösophagus

Long-Segment-Barrett-Ösophagus	
Ohne Dysplasie	Initial jährliche Endoskopie + Biopsie, falls 2x negativ alle 2-3 Jahre
Low-grade Dysplasie	Initial ½ jährliche Endoskopie + Biopsie, falls 2x negativ jährlich
High-grade Dysplasie	Alle 3 Monate Endoskopie + Biopsie mit Bestätigung durch zweiten Pathologen
Short-Segment-Barrett-Ösophagus	
Ohne Dysplasie	Initial jährliche Endoskopie + Biopsie, falls zweimal negativ alle 4 Jahre
Mit Dysplasie	Alle 3 Monate Endoskopie + Biopsie mit Bestätigung durch zweiten Pathologen

Therapieverfahren

Ein bisher noch wenig genutztes Therapieverfahren ist die Thermokoagulation mit Laserlicht. Sie kommt bei kleinen Läsionen und nicht möglicher endoskopischer Mukosaresektion (siehe unten) in Betracht. Die photodynamische Therapie beruht auf einer selektiven Sensibilisierung von präkanzerösen oder malignen Läsionen und einer lichtinduzierten Gewebedestruktion durch Photosensibilisatoren wie Hämatoporphyrin oder 5-Aminolävulinsäure. Für umschriebene Läsionen im Sinne eines Short-Segment-Barrett-Ösophagus, umschriebenen Herden von hochgradiger Dysplasie oder einem frühen Karzinom im Long-Segment-Barrett-Ösophagus kommt als weitere Methode die endoskopische Mukosaresektion in Frage. Sie ist die Methode der Wahl bei high-grade Dysplasien und Frühkarzinomen. Auch bei der Langzeittherapie von Barrett-Patienten mit Protonenpumpeninhibitoren konnten gute Ergebnisse erzielt werden. Es kam sowohl zu einer Reduktion der Länge und Fläche des Barrettepithels als auch zu einer Vermehrung der Plattenepithelinseln innerhalb einer Barrett-Läsion (Peters et al., 1999). Die Frage nach der Therapie der Wahl ist im Moment nicht für alle Barrett-Stadien

eindeutig lösbar. Zwar sollte ein Ziel der Behandlung die völlige Abtragung des vorhandenen Barrettepithels sein, es können sich jedoch neue Barrett-Läsionen bilden, oder nach Therapie noch vorhandene Reste (unter Plattenepithel versteckt) wieder an Größe und Dysplasiegrad zunehmen. Deshalb müssen trotz Abtragung des Epithels Überwachungen in regelmäßigen Abständen erfolgen. Alle endoskopischen Therapieverfahren der high-grade Dysplasie und dem frühen Karzinom des Barrett-Ösophagus müssen noch als klinisch experimentell angesehen werden.

Die intestinale Metaplasie der Magenschleimhaut

Die intestinale Metaplasie ist definiert als Ersatz der Magenschleimhaut durch ein der Dünndarm- bzw. Dickdarmschleimhaut ähnliches Gewebe. Sie ist sehr häufig zu finden, verstärkt ab dem 40. Lebensjahr (Tatsuta et al., 1979), bevorzugt in Karzinom- oder Ulcus-ventriculi-Mägen (Heilmann, 1978) und weist eine statistisch signifikante Abhängigkeit mit *Helicobacter-pylori*-Gastritiden und deren Schweregrad, Aktivität und Dauer auf (Stolte, 1992). Die Ursache einer intestinalen Metaplasie scheint immer in erosiven Schleimhautdefekten zu liegen, gleichgültig ob sie durch eine Typ A-, B- oder C-Gastritis ausgelöst werden. Das Antrum ist häufiger betroffen als das Korpus (Stolte, 1992). Man unterscheidet drei Typen der intestinalen Metaplasie (Filipe et al., 1986; Ming, 1994):

Typ I, komplette intestinale Metaplasie, „Dünndarmtyp“

Hierbei findet man ein Dünndarm-ähnliches Epithel mit gestreckt verlaufenden, regelmäßigen Krypten. Es beinhaltet reichlich ausgereifte Enterozyten mit Bürstensaum (Saumzellen), ebenfalls reichlich Becherzellen und Panethzellen. In den Becherzellen werden Sialomuzine (sonst hauptsächlich in Dünndarm) und gelegentlich Sulfomuzine (sonst hauptsächlich im Dickdarm) produziert.

Typ II, inkomplette intestinale Metaplasie, „Enterogastrischer Typ“

Das charakteristische Gesamtbild erscheint hier Magen-ähnlich, aber mit Becherzellen. Es findet sich eine leichte Störung der Kriptenstrukturen mit etwas irregulärem geschlängelter Verlauf. Enterozyten und Panethzellen

fehlen oder sind nur spärlich vorhanden, schleimbildende Foveolarzellen („muköse Zellen“) sind in verschiedenen Differenzierungsgraden zu finden, welche neutrale Muzine und Sialomuzine bilden. Letztere werden ebenfalls von den vorhandenen Becherzellen produziert, ebenso wie gelegentlich Sulfomuzine.

Typ III, inkomplette intestinale Metaplasie, „Enterokolischer“ oder „Kolon Typ“

Die intestinale Metaplasie Typ III zeichnet sich aus durch Kolon-ähnliche mit Becherzellen besetzten Krypten, welche variabel gestört und stärker entdifferenziert sind als bei Typ II. Enterozyten und Panethzellen fehlen meist, Foveolarzellen und Becherzellen finden sich in verschiedenen Differenzierungsgraden. Sialomuzine werden von Becherzellen, Sulfomuzine von Becherzellen und Foveolarzellen gebildet.

Unter allen intestinalen Metaplasie-Typen ist der Typ I am häufigsten vertreten. Von Typ I zu Typ III steigt die Zahl der morphologischen und funktionellen Atypien, was den prämaligen Charakter vor allem des Typ III andeutet (Filipe et al., 1995). In einer Vielzahl von Studien wurde auf einen Bezug zwischen dem Typ III und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der Entstehung eines Magenkarzinoms vom intestinalen Typ verwiesen (Filipe et al., 1995; Silva et al., 1986, 1990).

Neben den drei beschriebenen Formen finden sich ebenfalls Transitionalformen. Dies könnte darauf hinweisen, dass der metaplastische Prozess eine Dynamik besitzt, bei der eine Form der intestinalen Metaplasie in die nächste übergehen oder sich zurück entwickeln kann (Silva et al., 1990). Der Barrett-Ösophagus ist in seiner Art der inkompletten intestinalen Metaplasie am ähnlichsten.

Untersuchte Zellbestandteile

Intermediärfilamente

Intermediärfilamente sind Strukturen des Zytoskeletts von Vertebraten, die aus Protein-Untereinheiten mit charakteristischem α -helikalen Kernanteil aufgebaut sind. Diese Proteine lassen sich aufgrund ihres Sequenzvergleiches in fünf Gruppen einteilen (Herrmann und Aebi, 1998, siehe unten). Jedes Intermediärfilamentprotein wird charakteristischer Weise in bestimmten Geweben und Zellarten gebildet. Sie weisen außerordentlich verschiedene Sequenzen innerhalb einer großen Multigenfamilie auf und haben sehr unterschiedliche Molekulargewichte .

Intermediär- filament –Protein	MG (kDa) (x 10 ⁻³)	Vorkommen
Klasse I		
Saure Keratine	40-64	Epithelzellen
Klasse II		
Neutral-basische Keratine	52-68	Epithelzellen
Klasse III		
Desmin	53	Muskelzellen
Saures Gliafaserprotein	50	Gliazellen (v.a. Astrozyten)
Vimentin	55	Mesenchymzellen (unter anderem Fibroblasten, Adipozyten, Blutgefäßendothel)
Peripherin	54	Periphere und zentrale Nervenzellen

Klasse IV

Neurofilament-Proteine

NF-L (low)	68	Periphere und zentrale
NF-M (medium)	110	reife Nervenzellen
NF-H (high)	130	
α -Internexin	56	Zentralnervensystem während der Entwicklungsphase
Nestin	240	Neuroepitheliale Stammzellen

Klasse V

Lamine (A, B1, B2, C)	62-72	Zellkernlamina
-----------------------	-------	----------------

Struktureller Aufbau von Intermediärfilamenten

Es handelt sich bei den Intermediärfilamenten um dimere Proteine mit einer zentralen, hoch konservierten, α -helikalen superspiralisierten Domäne sowie nicht-helikalen Kopf- (NH_2) bzw. Schwanzdomänen (COOH), die in Länge und Gestalt variieren können. Somit sind die N- und C-terminalen Domänen verantwortlich für die Unterschiede der Sequenzen und Molekulargewichte des jeweiligen Intermediärfilamentes. Durch Aneinanderlagerung der Dimere zu Tetrameren und Protofilamenten entstehen letztendlich Protofibrillen, von denen vier zusammen ein 10 nm dickes, zylindrisches Filament ergeben. Es handelt sich hierbei nicht um ein starres Gebilde, sondern es konnte anhand von Experimenten mit Fluoreszenzen bewiesen werden, dass sich Intermediärfilament-Untereinheiten aus einem löslichen Pool an bereits existierende Filamente anlagern und Untereinheiten aus bestehenden Filamenten dissoziieren können (Herrmann und Aebi, 1998).

Auswirkungen der Intermediärfilamente auf die Zellstabilität

Von den Desmosomen und Hemidesmosomen (siehe unten) der Zellen gehen Bündel von Intermediärfilamenten aus, von denen einige parallel zur Zelloberfläche verlaufen, während andere das Zytosol durchkreuzen und zusammen ein inneres Gerüst bilden, das der Zelle Gestalt und mechanische

Belastbarkeit verleiht. Über die Desmosomen sind die Intermediärfilamente indirekt mit den Intermediärfilamenten der Nachbarzelle verbunden. Über Hemidesmosomen und Desmosomen können die Intermediärfilamente daher Scherkräfte, die auf ein begrenztes Gebiet der Zellschicht einwirken, auf das gesamte Epithel weiterleiten und dadurch den Zellverband in sich festigen. Ohne dieses Intermediärfilament-Gerüst wäre der Zellverband zwar noch über die Desmosomen verbunden, hätte aber nur geringe Abriebfestigkeit.

Keratine

Keratine sind stets Heterodimere im Verhältnis 1:1, die aus einer Mischung saurer (Typ I) und neutral-basischer (Typ II) Intermediärfilament-Polypeptide bestehen. Sie werden charakteristischer Weise von Epithelzellen gebildet. Die Keratinfilamente durchziehen das Zytoplasma von Epithelzellen meist mehr oder weniger stark gebündelt und finden ihre Ansatzpunkte an den Desmosomen und Hemidesmosomen, also an den Stellen des Zell-Zell- bzw. des Zell-Matrix-Kontaktes. Keratine bilden ein flexibles, jedoch sehr widerstandsfähiges Gerüst, das die Form der Epithelzellen stabilisiert. Man kennt zahlreiche Keratin-Isoformen, die man in zwei große Gruppen aufteilen kann. Ungefähr zehn Keratine sind für „harte“ Epithelschichten spezifisch und bilden Nägel, Haare und tierische Wolle; sie werden als trichozytische Keratine oder Haarkeratine bezeichnet. Etwa 20 weitere sog. Cytokeratine werden in Epithelgeweben und der Epidermis gefunden.

Cytokeratine

Cytokeratine können aufgrund der Ergebnisse von zweidimensionalen Gelelektrophoresen und von immunhistochemischen Untersuchungen in zwei Gruppen unterteilt werden: Typ I (Intermediärfilament-Klasse I) und Typ II (Intermediärfilament-Klasse II) (Moll et al., 1982; Sun et al., 1985; Moll, 1993; Nagle, 1994)

Typ I, saure Polypeptide, Molekulargewicht 40.000-60.000, CK 9-20

CK 9-11	nur in Epidermis
CK 12	in Kornea
CK 13	in nichtverhornendem Plattenepithel und Urothel
CK 14	in mehrschichtigem Plattenepithel (Basalschicht)
CK 15	in mehrschichtigem Plattenepithel (Basalschicht)
CK 16	in (hyper-) proliferativem Plattenepithel
CK 17	in mehrschichtigem Plattenepithel (Basalschicht)
CK 18	in einfachen einschichtigen Epithelien wie Trachea, Urothel
CK 19	in vielen einschichtigen Epithelien, in Basalzellen
CK 20	in Magen (foveoläres Epithel), Intestinaltrakt, Urothelzellen und Merkelzellen, Geschmackspapillen der Zunge unverhornter Plattenepithelien (z.B. Ösophagus)

Typ II, relativ große, neutrale bis leicht basische Polypeptide, Molekulargewicht 52.000-68.000, CK 1-8

CK 1 und CK 2	in verhornenden Plattenepithelien (Epidermis)
CK 3	in Kornea
CK 4	in nichtverhornenden Plattenepithelien (z.B. Ösophagus)
CK 5	in der Basalschicht von nichtverhornenden und verhornenden Plattenepithelien, in Basalzellen mehrreihiger Epithelien
CK 6	Haarfollikel (äußere Wurzelscheide), nichtverhornendes Plattenepithel
CK 7	in Gangepithelien, mehrreihigen Epithelien (luminale Zellen), Urothel, best. Drüsenzellen
CK 8	in einfachen einschichtigen Epithelien wie Trachea, Urothel, Drüsen

(Moll, 1993)

Bei den Cytokeratinen kommt es zu einer Koexpression von je einem Typ-I- und einem Typ-II-Cytokeratin, aus denen die Heterodimer-Untereinheiten aufgebaut werden. Die typischen Cytokeratin-Paare sind wie folgt:

Einschichtiges Epithel

Typ II / Typ I

CK 8/CK 18	primäres Paar, in den meisten sekretorischen und parenchymatösen Zellen
CK 7/CK 19	Ductales Epithel, CK 19 in gastrointestinalem Epithel
CK 8/CK 20	Gastrointestinales Epithel

Mehrschichtiges Plattenepithel

Typ II / Typ I

Basalzellen

CK 5/CK 14	primäres Paar
(CK 8)/(CK 18) CK 19	nichtverhornendes Plattenepithel

Suprabasalzellen

CK 1/CK 10, CK 11	Epidermis
CK 9	Epidermis
CK 2	Epidermis (CK 2e), Gingiva (CK 2p)
CK 3/CK 12	Kornea
CK 4/CK 13	nichtverhornendes Plattenepithel
CK 6/CK 16	nichtverhornendes Plattenepithel, hyperproliferative Epidermis

Cytokeratine in der Tumordiagnose

Durch die spezifische Expression bestimmter Cytokeratine in bestimmten Geweben kann ein Gewebe anhand seiner Cytokeratin-Muster bestimmt werden. Da es in den meisten Tumoren zu der gleichen oder nur leicht veränderten Cytokeratin-Expression kommt, kann bei der Frage nach dem Tumorursprung die Differentialdiagnose mit Hilfe der Cytokeratine vereinfacht werden. Ebenso können die verschiedenen Subtypen der Karzinome anhand ihrer Cytokeratin-Expression von einander unterschieden werden. Somit spielen Cytokeratine eine mittlerweile große Rolle bei der Einordnung von Tumoren, gleiches gilt auch für Metastasen. Durch den Nachweis eines bestimmten

Cytokeratin-Musters kann hier auch auf den Tumorursprung geschlossen werden (Moll et al., 1982; Moll, 1993; Nagle, 1994).

Die für unsere Arbeit wichtigen gewebspezifischen Cytokeratinmuster (Moll et al., 1982; Moll, 1993; Moll, 1998) sind hier noch kurz zusammengefasst:

Gewebe:	Cytokeratine:
Plattenepithel des Ösophagus	4, 5, 6, 13, 14, 15, 16, 17, 19
Plattenepithelkarzinom des Ösophagus	4, 5, 6, 8, 14, 15, 16, 17, 19
Magen	7 (nur sporadisch, in der fötalen Entwicklung positiv (Stosiek et al., 1991)) 8 (foveoläres Epithel, Corpus- und Antrumdrüsen) 18 (Corpus- und Antrumdrüsen) 19 (Corpus- und Antrumdrüsen) 20
Gastrales Adenokarzinom	7, 8, 17, 18, 19, 20
Dünndarmmukosa	8, 18, 19, 20
Dickdarmmukosa	8, 18, 19, 20
Kolorektales Adenokarzinom	7 (sporadisch), 8, 17, 18, 19, 20

Epithelzellen und ihre Zell-Zell-Verbindungen

Epithelzellen weisen eine strukturelle und funktionelle Polarität auf, um die vektoriellen Funktionen der Sekretion und Absorption zu bewältigen und den transepithelialen Fluss von Ionen und gegebenenfalls einen Konzentrationsgradienten zwischen verschiedenen Kompartimenten aufrecht zu erhalten. Wichtig bei den Epithelzellen ist der laterale Kontakt zwischen den einzelnen Zellen, die dem Gewebe seine Stabilität gegenüber Zug- und Scherkräften gewährt.

Zonula occludens (tight junction)

Elektronenmikroskopisch erscheint die Zonula occludens in einem vertikalen Schnitt durch eine Epithelzelle als schwarzer Verlötungspunkt an beiden lateralen Membranen der Zelle, direkt unterhalb der freien Oberfläche. In einem Horizontalschnitt einer Epithelzelle wird klar, dass es sich hierbei um ein Band handelt, dass sich aus mehreren Einzelbändern zu einem Geflecht verstrickt und sich um die ganze Zelle herum windet. Für integrale Membranproteine einer Zelle stellt die Zonula occludens eine Diffusionsbarriere da. Der Abstand zwischen zwei benachbarten Epithelzellen beträgt hier nur 0,1-0,3µm. Die Aufgaben der Zonula occludens bestehen einmal im Zell-Zell-Kontakt und zum zweiten in der Permeabilitätsbarriere für große und kleine Moleküle. Die Stärke der Permeabilität von Tight junctions scheint abhängig vom jeweiligen Gewebe zu sein.

Zonula adhaerens

Die Zonula adhaerens ist ebenfalls eine bandartige Struktur der lateralen Zellmembran, die sich in polaren Epithelzellen direkt unterhalb der Zonula occludens befindet. Hier sind die Zellmembranen benachbarter Zellen zwischen 15-20nm voneinander entfernt. An diesen Stellen ist in Epithelzellen das Transmembranprotein E-Cadherin lokalisiert (siehe unten). An der zytoplasmatischen Seite der Zellmembran befindet sich ein elektronendichter Plaque und eine Anhäufung feiner Filamente, die sich in ein zytoplasmatisches Aktinfilamenthaltiges transversales Netz fortsetzen (terminal web). Die Aufgabe der Zonula adhaerens liegt ebenfalls in der Zell-Zell-Adhäsion und der Stabilisierung des Zellgerüsts von Epithelzellen.

Macula adhaerens (Desmosom)

Die Macula adhaerens befindet sich unterhalb der Zonula adhaerens. Sie bildet, nicht wie die Zonula occludens und adhaerens ein Band um die Zelle, es handelt sich hierbei um einzelne, aber nahe aneinander gereihte Plaques, die sich um die Zelle ziehen. Die einzelnen Plaques werden als Desmosomen bezeichnet. Einzelne Desmosomen finden sich an den lateralen Zellmembranen

verteilt. Die Desmosomen bestehen aus zytoplasmatischen und interzellulären Anteilen. Der zytoplasmatische Teil der Desmosomen besteht aus einer 10-15nm dicken elektronendichten Plaque, welcher der Zellmembran aufliegt. Hier verankern sich Intermediärfilamente (bei Epithelzellen Zytokeratinfilamente). Der Interzellularspalt ist ca. 15-20nm breit und durchzogen von desmosomalen Cadherinen, den Desmogleinen und Desmocollinen (siehe unten). Diese stellen den Kontakt zwischen den zytoplasmatisch gelegenen Plaques der sich gegenüberliegenden Zellen her. Desmosomen sind nicht nur für den Zell-Zell-Kontakt zuständig, sie sind auch ein wichtiger Bestandteil zur Aufrechterhaltung der Zellstabilität. Sie kommen vorwiegend in Epithelzellen, aber auch in bestimmten nichtepithelialen Zellen wie z.B. den dendritischen Retikulumzellen des lymphatischen Gewebes vor.

Nexus (Gap junctions)

Gap junctions besitzen einen Interzellularspalt von bis zu 3 nm. Es finden sich Kanäle in der Zellmembran, welche von Connexonen gebildet werden. Diese finden sich auch in den gegenüberliegenden Zellen, beide Kanäle ragen bis zu 1,5 nm in den Interzellularspalt und verbinden sich an ihren Enden. Damit kommt es zu einer offenen Verbindung des Zytoplasmas zwischen zwei Zellen. Hierdurch können Ionen und kleine Proteine von einer Zelle zur anderen gelangen. Die Permeabilität der Gap junctions ist abhängig vom pH und der Konzentration an freien Calcium-Ionen. Ändert sich der Calciumgehalt der Zelle, wie z.B. bei einer Zellverletzung, schließen sich die Kanäle der Gap junctions. Damit wird ein Weiterleiten des Defektes verhindert und somit die anderen Zellen geschützt.

Hemidesmosomen

Hemidesmosomen finden sich an der basalen Seite von Epithelzellen und weisen – morphologisch analog den Desmosomen, aber mit anderer biochemischer Zusammensetzung – eine dichte Plaque an der Zytoplasmaseite auf, in dem Intermediärfilamente vom Cytokeratin-Typ inserieren. Hemidesmosomen dienen der Verankerung an der Basallamina, welche aus

der Lamina lucida (auf der Seite der Epithelzellen) und der Lamina densa besteht. Beide Laminae sind jeweils ca. 40-50 nm dick, jedoch kann die Basallamina in manchen Fällen auch dicker werden. Sie besteht aus Typ IV Kollagen, Laminin und Proteoglycanen.

Desmosomale Bestandteile

Desmosomen kommen in unterschiedlicher Weise in verschiedenen Gewebearten vor (Buxton et al., 1993). Sie können aber alle als komplexe Strukturen mit einem gemeinsamen molekularen Organisationsprinzip und einer dualen architektonischen Funktion, intrazellulär und extrazellulär, bezeichnet werden.

Intrazellulärer / Zytoplasmatischer Teil

Es findet sich ein der Zellmembran aufgelagerter, so genannter desmosomaler Plaque, der sich aus verschiedenen Proteinen zusammensetzt. Er dient der Verankerung von Intermediärfilamenten des Zytoplasmas und der Verankerung der transzellulären Proteine (siehe unten). Plakoglobin, das zur Armadillo-Proteinfamilie gehört, und Desmoplakin I sind voneinander unabhängige Proteine, die in desmosomalen Plaques aller Zelltypen vorkommen (Cowin et al., 1986). Das Plakoglobin bindet mit Desmogleinen, Desmocollinen, E- und N-Cadherinen (siehe unten).

Plakophiline

Ebenso zu der Familie der Armadillo-Proteine gehören die so genannten Plakophiline. Sie haben ebenfalls wie die gesamte Familie der Armadillo-Proteine eine sich wiederholende Aminosäuresequenz, die so genannten „arm-Repeats“. Jedoch ist die Anzahl dieser „arm-Motiv“-Kopien bei den Plakophilinen auf natürliche Weise verkürzt. Es konnten bis jetzt drei Isoformen der Plakophilinen unterschieden werden. PKP 1, auch als Bande-6-Protein bekannt, PKP 2a, 2b und PKP 3. Ihre Aufgabe besteht in der Verankerung von Intermediärfilamenten an die Plaques. Es konnten auch hier je nach Gewebe

Unterschiede im Auftreten der Plakophiline beobachtet werden (Mertens et al., 1996, 1999; Heid et al., 1994; Schmidt et al., 1999).

Extrazellulärer / Interzellulärer Teil

Die extrazellulären Aufgaben von Desmosomen bestehen im Zell-Zell-Kontakt und der Entstehung und Erhaltung von Gewebsorganisationen. Die hierfür verantwortlichen Proteine zählen zu der Familie der transmembranen Cadherine und werden als desmosomale Cadherine zusammengefasst. Bei den Cadherinen handelt es sich um integrale Membranglycoproteine mit insgesamt 720-750 Aminosäuren. Durchschnittlich stimmen 50-60% aller Positionen innerhalb ihrer Aminosäuresequenz überein. Die Bindungsspezifität der Cadherine wird durch Aminosäurenreste der rund 100 Aminosäuren bestimmt, die sich am äußeren Ende des N-Terminus in der „Spitze“ des Moleküls im Interzellulärspalt befinden. Im Interzellulärspalt ist es über ein Calciumion an das entsprechende Motiv des Cadherins der Nachbarzelle gebunden. Das C-terminale Ende ist im zytoplasmatischen Plaque der jeweiligen Zell-Zell-Verbindung (Desmosomen oder Zonula adhaerens) verankert und dort unter anderem an Plakoglobin gebunden. Für jedes Cadherin gibt es eine bestimmte Gewebsverteilung (Takeichi, 1991). Während der Differenzierung ändern sich Menge und Art der Cadherine auf den Zelloberflächen, wodurch viele von der Zell-Zell-Adhäsion abhängige Leistungen sowie die Zellbeweglichkeit beeinflusst werden. Von den mehr als 30 bekannten Cadherin-Arten sind die drei wichtigsten Subtypen das E-, P- und N-Cadherin, auch als klassische Cadherine bezeichnet, welche bereits in den frühen Differenzierungsstadien exprimiert werden. Die größte Anzahl verschiedener Cadherinmoleküle wird im Gehirn exprimiert, weil sich in diesem Organ möglicherweise eine große Zahl an sehr spezifischen Kontakten zwischen den Zellen geknüpft werden muss.

Molekül	Hauptsächliches Vorkommen
(Takeichi, 1991)	
E-Cadherin (Uvomorulin)	Epithelzellen (besonders in der Zonula adhaerens), Embryo vor der Einnistung
P-Cadherin	Trophoblast, Herz, Lunge, Darm
N-Cadherin	Nervensystem, Lunge, Herz, Augenlinse, Embryonales Mesoderm und Neuroektoderm

Wie das E-Cadherin in den Zonula adhaerentes das actinhaltige Zytoskelett bindet, so finden sich in den Desmosomen die desmosomalen Cadherine, die Desmogleine und Desmocolline mit ihren jeweiligen drei s-Unterformen.

Desmogleine

Es können drei Desmogleine (Dsg 1, Dsg 2, Dsg 3) aufgrund unterschiedlicher Molekulargewichte, Anzahl der Aminosäuren und Anzahl der charakteristischen „repeating units“ unterschieden werden. Die Desmogleine 1 und Desmogleine 3 sind bekannt als die Antigene zur Diagnosefindung bei Patienten mit Pemphigus foliaceus (Desmoglein 1) und Pemphigus vulgaris (Desmoglein 3) (Schmidt et al., 1994). Die Schwanzregion der Desmogleine verläuft so durch die desmosomale Plaque, dass immer die „repeating units“ auf der zytoplasmatischen Seite der Plaque hervortreten (Koch et al., 1990).

Desmocolline

Bei den Desmocollinen können ebenfalls drei Unterformen unterschieden werden, Desmocollin 1, Desmocollin 2 und Desmocollin 3. Jedes Desmocollin kann „differentiell gespleißt“ werden, es bilden sich jeweils zwei Formen, das längere Desmocollin a und das Kürzere, die b-Form. So gibt es insgesamt sechs Isoformen (Dsc 1a, 1b, Dsc 2a, 2b, Dsc 3a, 3b), wobei zur histologischen Differenzierung nur die einfache Unterteilung verwendet wird. Die Expression von Desmogleinen und Desmocollinen ist gewebespezifisch. Desmoglein 2 und Desmocollin 2 finden sich in allen Geweben, die Desmosomen beinhalten (mehrschichtiges Plattenepithel, einfaches einschichtiges Epithel, Myokard und

parenchymatöse Organe wie Leber und Niere), während die anderen in unterschiedlichen Geweben nachzuweisen sind. Die Desmogleine 1 und 3 finden sich in der Epidermis, den Tonsillen, der Zunge und im unverhornten Plattenepithel des Ösophagus. Das Desmocollin 1 kann sowohl in der Epidermis als auch im Lymphknoten nachgewiesen werden, das Desmocollin 3 ist in der Epidermis, den Tonsillen und dem unverhornten Plattenepithel des Ösophagus vorhanden. Die Expression kann aber selbst innerhalb einer Gewebeart variieren (Schmidt et al., 1994; Garrod et al., 1996).

Problem und Aufgabenstellung

Da es sich beim Barrett-Ösophagus um eine Erkrankung mit steigender Inzidenz und Progredienz handelt, wurde hieran in den vergangenen Jahren von verschiedensten Arbeitsgruppen intensive Forschung betrieben. Im Mittelpunkt dieser Forschung stehen die Prozesse der malignen Transformation des Barrettepithels, um die Entstehung des Barrett-Karzinoms besser verstehen zu lernen und damit eine gezieltere Diagnose und Therapie zu ermöglichen (s. oben, Abschnitt „Molekulargenetik der Dysplasie-Karzinom-Sequenz“). Dagegen gibt es vergleichsweise wenige Studien, die sich mit der Frage der Entstehung, also des Ursprungs des Barrettepithels beschäftigen und die letztendlich noch zu keiner Klarheit geführt haben. Es ist somit erstaunlich, dass für das pathologisch und klinisch so wichtige Phänomen der Barrettmukosa bezüglich der Histogenese immer noch lediglich Hypothesen verfügbar sind.

In der Literatur lassen sich vier Hypothesen zur Histogenese der Barrettmukosa auffinden.

1. Entstehung der Barrettmukosa aus kongenitalen Resten von Magenepithel im Ösophagus

Diese von Goldman und Beckman (1960) postulierte Hypothese wird heute kaum noch vertreten.

2. Entstehung der Barrettmukosa durch eine Kolonisierung durch Magenkardiaepithel

Diese Hypothese, die einem Hochwachsen regenerativer Magenkardiaschleimhaut in den durch die Refluxösophagitis geschädigten distalen Ösophagus entspricht (Bremner et al., 1970; Hage et al., 1972; Levine et al., 1989), wird häufiger genannt, wenngleich sie in letzter Zeit etwas in den Hintergrund getreten ist. Diese Hypothese beruht zum Teil auf Tierexperimenten am Hund (Bremner et al., 1970), teilweise auf elektronenmikroskopischen Untersuchungen, bei der die Ähnlichkeit der Barrettepithel-Zellen mit gastrischen mukösen Drüsenhalszellen als mögliche Progenitorzelle betont wird (Levine et al., 1989).

3. Entstehung der Barrettmukosa aus Ösophagusdrüsen

Die Hypothese einer Entstehung der Barrettmukosa aus Ösophagusdrüsen, speziell aus dem Gangepithel, wird in teils älteren, teils auch aktuelleren Berichten vertreten. Auch hier sind Tierexperimente am Hund zu nennen (Gillen et al., 1988, 1994). Wright (1996) betont die Bedeutung der „ösophagealen gastralen Drüsen“ am distalen Ösophagus, die für die Histogenese entscheidend sein sollen, gegenüber den gewöhnlichen, ubiquitär im Ösophagus verteilten Ösophagusdrüsen. Glickman et al. (2001,a) haben aufgrund einer Zytokeratin-Analyse das Drüsengangepithel mit der Histogenese des Barrettepithels verbunden.

4. Entstehung der Barrettmukosa aus multipotenten epithelialen Stammzellen des Plattenepithels des Ösophagus

Diese Hypothese wird heute am meisten favorisiert. Eine Basis dafür sind elektronenmikroskopische Untersuchungen von der Gruppe um H. M. Shields (Shields et al., 1993; Sawhney et al., 1996), die eine plattenepithelial-drüsenepitheliale Hybridzelle, die so genannte „distinctive cell“ am Plattenepithel-Barrett-Übergang in elektronenmikroskopischen Untersuchungen beschrieben haben, die letztlich einen plattenepithelialen Ursprung haben soll. Andere Autoren gründen diese Hypothese auf einer Analyse von Cytokeratinen. So haben Salo et al. (1996) plattenepitheliale Cytokeratine im Barrettepithel beschrieben und Boch et al. (1997) fanden in dem speziellen „multilayered

epithelium“ sowohl plattenepitheliale als auch drüsige Cytokeratine. Glickman et al. (2001,b) postulierten dieses von Plattenepithel abgeleitete „multilayered epithelium“ als eine Vorstufe der Barrettmukosa. Diese Hypothese beruht auf der postulierten Existenz multipotenter epithelialer Stammzellen innerhalb der Basalzellschicht des Plattenepithel des Ösophagus.

Auf Basis der Cytokeratine ist in jüngster Zeit ein anderer Aspekt in den Vordergrund getreten. Ein spezielles Muster der Cytokeratine 7 und 20 soll als diagnostischer Marker für Barrettmukosa dienen können. Das spezielle „Barrett-spezifische Cytokeratin 7/20-Muster“ wurde erstmals von Ormsby (1999) beschrieben. Cytokeratin 7 ist hierbei durchgehend in der gesamten Breite der Barrettmukosa positiv. Cytokeratin 20 ist hingegen nur auf der Oberfläche und im Bereich der oberflächlichen Drüsen und Krypten stark exprimiert, dagegen in den tiefen Krypten negativ. Diese Befunde konnten in weiteren Studien auch anderer Arbeitsgruppen im wesentlichen bestätigt werden (s. Diskussion). Die diesbezüglichen Befunde sind aber bislang noch nicht im Hinblick auf eine Signifikanz bezüglich der Histogenese der Barrettmukosa eingesetzt worden; vielmehr geht es um den diagnostischen Aspekt des Barrett-spezifischen Cytokeratin 7/20-Musters zur sichereren Erkennung des Barrettepithels und Abgrenzung von der intestinalen Metaplasie der Kardiaschleimhaut. Wenige Studien gibt es zu Adhäsionsmolekülen in der Barrettmukosa. Im Zusammenhang mit der Barrett-Metaplasie und ihrer Dysplasie-Karzinom-Sequenz wurde das epitheliale Adhäsionsmolekül E-Cadherin untersucht. Sowohl Bailey et al. (1998), als auch Washington et al. (1998) und Seery et al. (1999) kamen zu dem Ergebnis, dass die Entwicklung des Barrett-Karzinoms mit einer Abnahme des E-Cadherins verbunden ist.

Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit ist es nun, eine umfassende Übersicht über die verschiedenen, mit dem Barrett-Ösophagus und seinen malignen Transformationen in Bezug stehenden zellulären Bestandteilen der Intermediärfilamente und der Desmosomen, speziell aller verfügbaren Cytokeratine und des kompletten Spektrums der desmosomalen Cadherine zu

bekommen. Derartige komplette Analysen liegen bisher in der Literatur noch nicht vor.

Für die Cytokeratin-Übersicht wurden die Cytokeratine 4, 5, 6, 7, 8, 13, 14, 17, 18, 19, 20, E-Cadherin, die bis heute im Bezug zum Barrettepithel größtenteils unerforschten Desmogleine 1, 2 und 3, Desmocolline 1, 2 und 3, (hier gibt es in der Literatur bislang lediglich einen Kurzbericht in Abstract-Form: Morris et al. (2001) und Plakophilin 2 in unsere Studie mit einbezogen. Alle Proteine wurden durch immunhistochemische Reaktion mit Antikörpern nachgewiesen. Wir haben diese Antikörper an gewöhnlichem Barrettepithel, Barrettepithel mit low-grade Dysplasie, Adenokarzinom des Barrett-Ösophagus, Kardiaschleimhaut, intestinaler Metaplasie des Magens, Duodenum, Jejunum und fötalem Ösophagus getestet. Hintergrund dieser Analysen ist die Erfahrungstatsache, dass zwischen Ausgangsgewebe und metaplastischem Gewebe bestimmte Leitmarker der Zelldifferenzierung erhalten bleiben. So finden sich z.B. plattenepitheliale Cytokeratine (Cytokeratin 5, Cytokeratin 14) sowohl im respiratorischen Epithel in den Basalzellen als auch in der daraus entstehenden bronchialen Plattenepithelmetaplasie (Moll, 1993). Die durchgeführten Untersuchungen stellen somit eine immunphänotypische Vergleichsstudie zwischen der Barrettmukosa und mehreren potentiellen Ausgangsgeweben (Ösophagus-Plattenepithel, Ösophagus-Drüsen, Magenkardiaschleimhaut) dar. Da die Barrett-Metaplasie möglicherweise auch einen fötalen Atavismus bei refluxbedingter Schädigung darstellen könnte, haben wir auch das fötale Ösophagusepithel in die Analysen miteinbezogen. Die verwendeten Marker (Cytokeratine und desmosomale Cadherine) stellen jeweils ein Spektrum an differenzierungsspezifisch exprimierten Proteinen dar, die inzwischen gut definiert sind und schlüssige Aussagen erlauben sollten. Wir hoffen durch unsere Arbeit einen weiteren Schritt in der Barrett-Analyse zu erzielen und somit zum Verständnis dieser Erkrankung einen kleinen Beitrag geleistet zu haben.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Untersuchungsmaterial

Bei dem in der vorliegenden Arbeit retrospektiv untersuchten Gewebematerial handelte es sich überwiegend um endoskopisch entnommene Biopsien, und nur im Einzelfall um chirurgische Resektate. Das Gewebe wurde nach Entnahme in zehnprozentiger Formalinlösung fixiert, in Paraffinblöcke eingebettet, der histologischen Routine unterzogen und archiviert. Der Hauptteil der verwendeten Proben stammt aus dem Institut für Pathologie, Klinikum Bayreuth, Leitung Prof. Dr. med. M. Stolte.

Die folgenden Präparate entstammen dem Bayreuther Archiv:

Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie; (Normaler Barrett für CK5; CK5/6; E3 screening); 250 Fälle

Barrett-Ösophagus mit low-grade Dysplasie; 6 Fälle

Barrett-Karzinom; 10 Fälle

Fötaler Ösophagus; 5 Fälle

Die restlichen Präparate entstammen dem Archiv unseres Instituts für Pathologie der Philipps-Universität Marburg. Die hier vorgenommene Differentialdiagnostik wurde in fraglichen Fällen mit dem Bayreuther Institut diskutiert und gegebenenfalls angepasst. Die Dysplasiegrade der für die Untersuchung rekontierten Fälle wurden von zwei Pathologen (Prof. M. Vieth, Prof. R. Moll) im Konsens reevaluiert. Insgesamt wurden die Barrett-Biopsien in den Jahren zwischen 1994 und 2001 entnommen. Alter und Geschlecht wurden bei der Auswertung mit berücksichtigt und werden hier kurz aufgeführt:

Barrettschleimhaut ohne Dysplasie: Ø 57, 4 w, 31 m

Barrettschleimhaut mit Dysplasie: Ø 69, 1w, 5m

Barrett-Karzinom: Ø 70, 1w, 9m

Intestinale Metaplasie: Ø 64, 2w, 2m

Foveoläres Magenepithel: Ø62, 2w, 5m

Dünndarmepithel: Ø 61, 3w, 1m

Ø = Durchschnittsalter bei Probenentnahme

w = weibliche Patienten

m = männliche Patienten

2.1.2. Chemikalien und Ansätze für die Immunhistologie

Xylol (Merck)

Ethanol (Merck)

Methanol (Merck)

30% H₂O₂ (Merck)

Citratpuffer 10mM:

2,94g/l Tri-Na-Citrat-Dihydrat-Puffer (Merck), pH 6,0 mit HCl (Merck) einstellen

Tris-HCl-Puffer 0,05m

60,57g Tris (Sigma) in ca. 500ml aqua dest lösen, mit 1n HCl (Merck) auf pH 7,4 einstellen und auf 1l auffüllen, zum Gebrauch 1:10 verdünnen

Trypsin-Lösung

300mg Trypsin (Sigma) + 300mg CaCl₂ (Merck) mit 300ml 0,05m Tris-HCl-Puffer lösen und mit 1n NaOH (Merck) auf pH 7,8 einstellen

TBS

53g NaCl (Riedel-de-Haen) + 12g Tris (Sigma) ad 1000ml aqua dest, zum Gebrauch 1:10 verdünnen, pH 7,4

PBS 0,15m

8g NaCl (Riedel-de-Haen) + 0,2g Tris (Sigma) + 1,16g NaHPO₄ 2H₂O (Merck) + 0,2g KH₂PO₄ (Merck), pH 7,4 einstellen

2% MP-PBS

2g Magermilchpulver in 100 ml PBS lösen

Normalserum (Vektor)

Verdünnung 1:10 in PBS; stammt aus der Spezies in der der Sekundärantikörper produziert wurde; bei dem Sekundärantikörper Anti-Rabbit (siehe 2.1.3.2.) aus der Spezies Ziege und bei dem Sekundärantikörper Anti-Mouse (siehe 2.1.3.2.) aus der Spezies Pferd.

ABC-Komplex (Vektor)

1000µl PBS + 20µl Komplex A + 20µl Komplex B

DAB, Diaminobenzidin (Sigma)

200mg DAB + 200ml Tris-HCl-Puffer 0,5m (pH 6.0) + 200µl 10% H₂O₂

Hämalaun

50ml Hämalaun (Mayer) + 250ml aqua dest

Entellan (Merck)

2.1.3. Antikörper

Primärantikörper

Alle verwendeten Primärantikörper bis auf Dsc 2 (polyklonaler Antikörper, Spezies Kaninchen) sind monoklonale Antikörper, entstammen der Spezies Maus und sind gegen humane Proteine gerichtet.

Sekundärantikörper

Verdünnung 1:100 in PBS, ist gegen die Tierart gerichtet, in der der Primärantikörper produziert wurde. Verwendet wurden Anti-Mouse IgG (H+L) biotinyliert und Anti-Rabbit IgG (H+L) biotinyliert der Firma Vektor.

Tabelle 2.1: Antikörpertabelle

Antikörper	Klon	Verdün- nung	Mikro- welle	Tryp- sin	Milch- pulver	Hersteller	Literatur
CK 4	6B10	1:50	3x5 min	+		Euro Diagnostics Apeldoorn, Niederlande	Moll, 1993
CK 5 *	D5/16 B 4	1:500	3x5 min	+		Roche Diagnostics Mannheim	Böcker et al., 2002
CK 6	KA 12	1:50	5x5 min	+		Progen Heidelberg	Demirksen et al., 1995
CK 7	OV-TL 12/30	1:50	3x5 min	+		Monosan, Sanbio Niederlande	Ramaekers et al., 1990
CK 7	Ks 7.18	1:500	3x5 min	+		Progen Heidelberg	Bartek et al., 1991
CK 8	CAM 5.2	1:50	3x5 min	+		BD Biosciences Heidelberg	Moll, 1993
CK 13	Ks 13.1	1:50	3x5 min	+		Progen Heidelberg	Moll et al., 1988
CK 13	2D7	1:5	3x5 min	+		Monosan, Sanbio Niederlande	Moll, 1993
CK 14	LL001	1:10	3x5 min			Dr. E. B. Lane University of Dundee UK	Purkis et al., 1990
CK 17	E 3	1:10	4x5 min	+		Progen Heidelberg	Guelstein et al., 1988
CK 18	Ks 18.04	3 Trp unvrd.	3x5 min	+		Progen Heidelberg	Bartek et al., 1991
CK 19	Ks 19.1	1:50	3x5 min	+		Progen Heidelberg	Karsten et al., 1985
CK 20	IT-Ks 20.8	1:20	4x5 min	+		Progen Heidelberg	Moll et al., 1992
E-Cad	HECD-1	1:300	3x5 min			R + S Systems Abingdon UK	Takeichi, 1991
E-Cad	5H9	1:3	5x5 min		2% MP	Progen Heidelberg	Moll et al., 1993
PKP2	PP2/150	1:5	5x5 min	+	2% MP	Prof. Dr. W.W. Franke Heidelberg	Mertens et al., 1996
Dsg 1	P 124	1:200	3x5 min	+	2% MP	Progen Heidelberg	Kurzen et al., 1998
Dsg 2	Dsg2-G 129	unvrd.	4x5 min	+		Progen Heidelberg	Schäfer et al., 1994
Dsg 3	5G11	1:50	5x5 min	+	2% MP	Progen Heidelberg	Kurzen et al., 1998
Dsc 1	Dsc1-U100	1:5	3x5 min	+		Progen Heidelberg	Nuber et al., 1996
Dsc 2	rab 36	1:1000	4x5 min	+		Prof. Dr. W.W. Franke Heidelberg	Nuber et al., 1995
Dsc 3	Dsc3-U114	1:20	3x5 min	+		Progen Heidelberg	Nuber et al., 1996

* = Ursprünglich als anti-CK 5/6-Antikörper angesehen. Nach Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe erkennt der Antikörper jedoch nur CK 5 (Böbker et al., 2002)

2.2. Methoden

2.2.1. Gewebeaufbereitung zur immunhistochemischen Färbung

Die entnommenen Biopsien waren in zehnprozentiger Formalinlösung (entsprechend 3,76% Formaldehyd) fixiert und nachfolgend in Paraffin eingebettet worden. Zur leichteren Bearbeitung wurden die Paraffinblöcke vor der Bearbeitung für ca. 20 Minuten bei -20°C gelagert. Die mit einem Schlitten-Mikrotom (SM 200 R, Leica) erstellten, ca. 2 Mikrometer dicken Schnitte wurden auf Super-frost-plus-Glasobjektträger der Firma Menzel aufgezogen und im Brutschrank für mindestens 60 Minuten bei 60 °C getrocknet.

2.2.2. Avidin-Biotin-Methode

1. Zur Entparaffinierung werden die Schnitte 4 x 10 Minuten in Xylol gestellt und dann durch eine absteigende Alkoholreihe (100%, 100%, 96%, 96%, 70%, 50%) gezogen.

2. Um eine Anfärbung der bereits im Gewebe vorhandenen endogenen Peroxidase zu unterdrücken, wird diese durch eine 30-minütige Inkubation der Schnitte in einem Methanol / 30% H₂O₂-Gemisch im Verhältnis 100/3 blockiert.

3. Spülen mit Leitungswasser.

4. Nun werden die Schnitte in Copline-Gefäße der Firma Sigma gestellt, mit 4°C kaltem Citratpuffer (siehe 2.1.2.) aufgefüllt, der Deckel gut verschlossen und bei 600 Watt in fünf-Minuten-Durchgängen erhitzt. Die Anzahl der Durchgänge ist abhängig vom jeweiligen Antikörper (siehe Tabelle 2.1.), wobei nach jedem

Durchgang die verdunstete Menge Citratpuffer nachgefüllt wird. Nach dem letzten Durchgang werden die Küvetten zum Abkühlen bei Raumtemperatur für 15 Minuten stehen gelassen, um anschließend mit TBS (siehe 2.1.2.) gespült zu werden.

5. Die bei der Formalinfixierung entstandenen Aldehydvernetzungen, welche Gewebsantigene maskieren können und somit die Bindung der Primärantikörper verhindern, werden bei den meisten Antikörpern (siehe Tabelle 2.1.) durch die Mikrowellenbehandlung als auch durch eine nachfolgende Behandlung mit dem Enzym Trypsin (siehe 2.1.2.) angedaut. Die 0,001-prozentige Trypsinlösung wird auf 37°C vorgewärmt und die Schnitte darin 10 Minuten bei 37°C inkubiert.

6. Spülen mit Leitungswasser.

7. Die Objektträger werden nun auf Plastikhalterungen (coverplates), die einen Kapillarspalt über dem Schnittpräparat erzeugen, mit PBS (siehe 2.1.2) aufmontiert und in dazu passende Inkubationskammern (Firma Shandon) gestellt.

Bei den folgenden Schritten wird die Flüssigkeit jeweils in die Einfüllöffnung der Coverplates hinein pipettiert.

8. Auftragen von 100µl Normalserum (siehe 2.1.2.) auf die einzelnen Schnitte. Das Normalserum lagert sich an elektrisch geladenes Kollagen und Bindegewebe an und verhindert somit die unspezifische Bindung von Primärantikörpern an diesen Stellen. Inkubationszeit: 20 Minuten.

9. Die Primärantikörper werden entsprechend verdünnt (siehe Tabelle 2.1.), davon jeweils 100µl auf die Schnitte verteilt und bei 37°C für 1 Stunde inkubiert (Die Antikörper PKP2 und Dsg2 werden nach der 37°C-Inkubation über Nacht bei 4°C stehen gelassen). Der F_{ab}-Teil der Primärantikörper bindet hierbei an spezifische Antigene des Gewebes.

10. Durch Spülen mit 5ml PBS werden die nicht gebundenen Primärantikörper entfernt.
11. Der mit Biotin konjugierte Sekundärantikörper wird in verdünnter Lösung zu 100 μ l auf die Schnitte verteilt, wobei er mit seinem F_{ab} -Teil an den F_c -Teil des Primärantikörpers bindet. Inkubationszeit: 30 Minuten.
12. Durch Spülen mit PBS werden die nicht gebundenen Sekundärantikörper entfernt.
13. Der ABC-Komplex (siehe 2.1.2.) ist ein mit Peroxidase konjugierter Avidin-Biotin-Komplex, der mit den freien Stellen des Avidinmoleküls an das Biotin des Sekundärantikörpers bindet. Es werden jeweils 100 μ l des Komplexes auf die Schnitte pipettiert und für 30 Minuten inkubiert.
14. Durch Spülen mit PBS werden die nicht gebundenen ABC-Komplexe entfernt.
15. Danach werden die Objektträger aus den Coverplates entnommen und in Küvetten eingebracht.
16. Das am ABC-Komplex konjugierte Peroxidase-Enzym bildet mit dem Chromogen DAB und 30 %igem H_2O_2 (siehe 2.1.2.) eine bräunliche, in Alkohol unlösliche Farbe. Inkubationszeit: 7 Minuten.
17. Spülen mit Leitungswasser stoppt die Reaktion.
18. Um die Zellen sichtbar zu machen, werden die Schnitte zur Gegenfärbung ca. sechs mal in Hämalun getaucht.
19. Spülen mit Leitungswasser, um die Färbung zu stoppen.
20. Die Schnitte werden nun in aufsteigender Konzentration durch die Alkoholreihe gezogen und verweilen jeweils 5 Minuten in hundertprozentigem

Ethanol und jeweils drei Minuten in hundertprozentigem Xylol, um eine vollständige Dehydratation zu gewährleisten.

21. Zum Eindecken werden die Objektträger mit ein paar Tropfen Entellan bestrichen und mit einem Deckglas versiegelt.

2.2.3. Auswertungsmethode der immunhistochemischen Präparate

Die immunhistochemisch und mit HE und PAS gefärbten Präparate wurden mit einem Lichtmikroskop der Firma Olympus in 4, 10 und 40-facher Vergrößerung untersucht.

Die Einteilung der verschiedenen Färbeergebnisse wurde anhand der folgenden Definitionen ermittelt:

Reaktionsstärke:

0 = negativ (keinerlei Färbung erkennbar)

0,5 = sehr schwach positiv (schwaches Gelb-Braun im Sinne einer leichten Färbung sehr geringer Intensität; es sind jedoch klare Strukturen markiert, so dass die Reaktion als spezifisch anzusehen ist)

1 = mäßig positiv (helles Braun, die gefärbten Strukturen sind in ihrer Feinheit sehr gut zu differenzieren)

2 = stark positiv (dunkles Braun; die gefärbten Strukturen sind gut erkennbar)

3 = sehr stark positiv (sehr dunkles Braun)

Prozentualer Anteil der gefärbten Zellen:

Der prozentuale Anteil der gefärbten Zellen konnte hier nur durch Schätzung ermittelt werden. Die Prozentzahlen wurden sowohl von der Autorin als auch von Prof. R. Moll ermittelt und gemeinsam reevaluiert.

2.2.4. Bildgebung

Die Dias der Präparate wurden mit einem Photomikroskop von Olympus Typ VANOX AHBT3 in 20 x 2,5-facher, oder 40 x 2,5-facher Vergrößerung aufgenommen und mit Adobe Photoshop 7.0 digital bearbeitet.

3. Ergebnisse

Für diese Studie wurden 350 Gewebeproben von insgesamt 316 Patienten immunhistochemisch mittels 22 verschiedener Antikörper untersucht. Die verwendeten Antikörper sind der Antikörpertabelle im Material und Methoden-Teil (Tabelle 2.1.) zu entnehmen. Da nicht jeder Fall mit allen Antikörpern getestet wurden, ist hier die Auswahl der bei allen Fällen (mit Ausnahme der Zusatzserie für das Cytokeratin 5/Cytokeratin 17 -Screening) verwendeten Antikörper aufgelistet:

Standardserie:

Cytokeratine:

CK 20 (Klon IT-Ks 20.8)	CK 5 (Klon D5/16 B 4)
CK 7 (Klon OV-TL 12/30)	CK 17 (Klon E3)
CK 7 (Klon Ks 7.18)	CK 18 (Klon Ks 18.04)

Adhäsionsmoleküle:

E-Cadherin (Klon HECD-1)
E-Cadherin (Klon 5H9)
Desmoglein 2 (Klon Dsg2-G 129)
Desmocollin 2 (Kaninchenantikörper rab 36)
Plakophilin 2 (Klon PP2/150)

Bei der erweiterten Serie, die in einem jeweils repräsentativen Teil der Fälle eingesetzt wurde, kamen zusätzlich die übrigen Antikörper (siehe Tabelle 2.1.) zum Einsatz. Da diese Antikörper in der erweiterten Serie stets einheitliche Ergebnisse zeigten, wurden sie nicht im gesamten Fallgut angewendet.

Erklärung der Graphiken

X-Achse

Die X-Achse ist unterteilt in drei Bereiche: "Gesamtmukosa", "Oberflächenzone" und "Kryptenzone". "Gesamtmukosa" (GM) bedeutet die Gesamtheit der verschiedenen Zonen der Biopsie, welche sich unterteilt in:

- oberflächlich gelegenes Zylinderepithel bis zu den Kryptenhälsen (definiert als "Oberflächenzone" (OZ));
- tiefer gelegene Schleimhautareale mit kriptenartigen Strukturen (definiert als "Kryptenzone" (KZ));

Für die Adhäsionsmoleküle wurden die Oberflächenzone (OZ) und die Kryptenzone (KZ) ein weiteres mal unterteilt in OZ,M; OZ,Z; KZ,M und KZ,Z. Hierbei wurde die Färbung spezifisch auf die Zellmembranen (M) oder das Zytoplasma (Z) beurteilt.

Definition der Färbestufen

Innerhalb der Bereiche wurden die Ergebnisse auf unterschiedliche Färbestufen verteilt:

0 = negativ (keinerlei Färbung erkennbar)

0,5 = sehr schwach positiv (schwaches Gelb-Braun im Sinne einer leichten Färbung sehr geringer Intensität; es sind jedoch klare Strukturen markiert, so dass die Reaktion als spezifisch anzusehen ist)

1 = mäßig positiv (helles Braun, die gefärbten Strukturen sind in ihrer Feinheit sehr gut zu differenzieren)

2 = stark positiv (dunkles Braun; die gefärbten Strukturen sind gut erkennbar)

3 = sehr stark positiv (sehr dunkles Braun)

Y-Achse

Prozentualer Anteil der gefärbten Zellen, bezogen auf den jeweiligen Bereich und dessen Färbestufen ("Gesamtmukosa", "Oberflächenzone" oder "Kryptenzone"). Ein Punkt innerhalb des Koordinatensystems ist gleichzusetzen mit dem Färbeergebnis eines Falles.

Erklärung der Tabellen

Die Einteilung der Tabellen erfolgt in die oben genannten Bereiche. Innerhalb der Bereiche sind die Ergebnisse der ersten und vierten Quartile sowie der Median der Prozentzahlen (%) sowie der Färbestufen (Stärke) aufgeführt.

3.1. Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie

Es wurden insgesamt 37 Fälle von 35 Patienten untersucht. Davon wurden 24 Fälle (von 24 Patienten) mit allen Antikörpern (erweiterte Serie) und 13 Fälle (von 11 Patienten) mit der Standard-Antikörper-Reihe getestet. Zusätzlich wurde jeder Fall mit HE und PAS zur Beurteilung der Morphologie gefärbt.

3.1.1. Cytokeratine im Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie

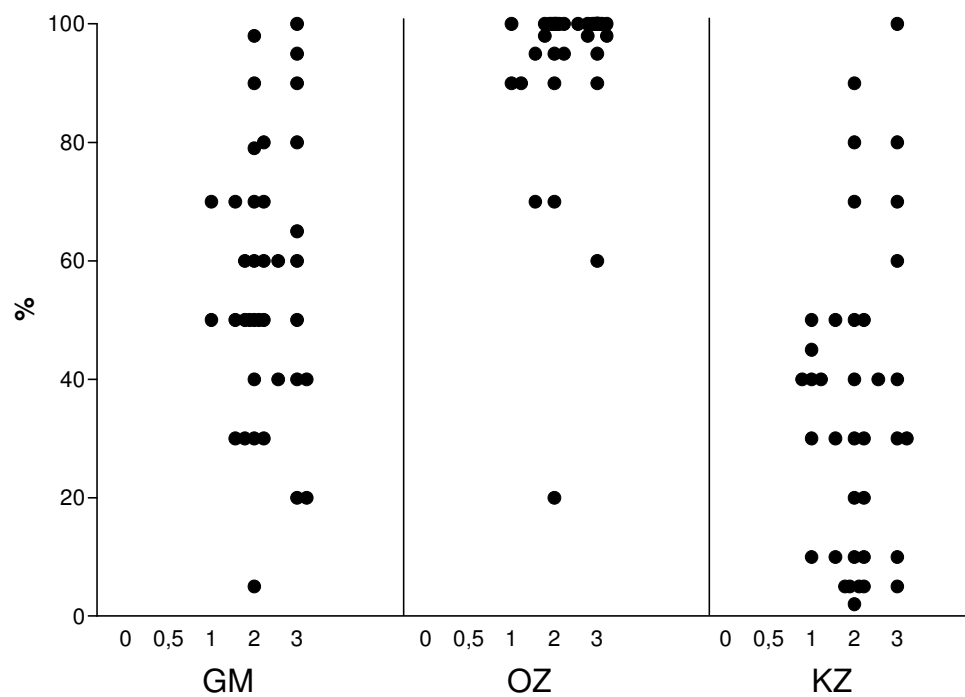
Cytokeratin 20

Cytokeratin 20, aufgrund seiner Spezifität für gastrointestinale Epithelien mit das wichtigste Cytokeratin in Bezug auf den Barrett-Ösophagus, wies in seinem Färbeverhalten ein typisches Muster auf. Die Oberfläche des Barrettepithels wurde bei den meisten der 37 hier getesteten Fällen stark bis sehr stark und homogen gefärbt. Sowohl Präbecherzellen als auch Becherzellen waren in gleicher Weise positiv. Die oberflächlichen Krypten zeigten noch eine ähnliche Färbung wie die Oberflächenzone selbst, jedoch nahm mit zunehmender Kryptentiefe die Anzahl der Cytokeratin 20-positiven Epithelzellen sehr stark ab. Ab ca. 1/3 der Kryptentiefe waren die Zellen in der Regel negativ. Anhand der Grafik wird jedoch ersichtlich, dass die einzelnen Ergebnisse einer großen Streuung unterliegen.

Tabelle 3.1: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 20 (IT-Ks 20.8)						
1. Quartile		40		95		10
Median	2	50	2	100	2	30
4. Quartile		70		100		50

Graphik 3.1: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 20, IT-Ks 20.8



n = 37

nGM 0 = 0, nGM 0,5 = 0, nGM 1 = 2, nGM 2 = 22, nGM 3 = 13

nOZ 0 = 0, nOZ 0,5 = 0, nOZ 1 = 3, nOZ 2 = 16, nOZ 3 = 18

nKZ 0 = 0, nKZ 0,5 = 0, nKZ 1 = 7, nKZ 2 = 20, nKZ 3 = 10

Cytokeratin 7

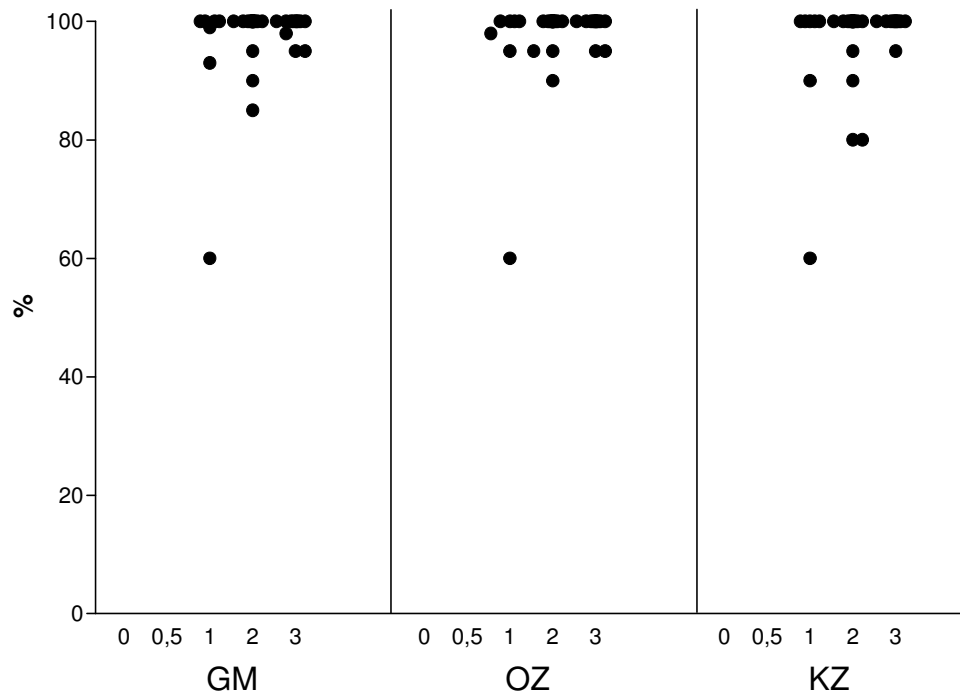
Cytokeratin 7 kommt im normalen Darmepithel typischerweise nicht vor. In allen 37 Fällen wurde Cytokeratin 7 mit zwei verschiedenen Antikörpern getestet, die sich in ihrer Sensitivität deutlich unterschieden. Mit dem sensitiveren Antikörper, dem Klon OV-TL 12/30, wurde das gesamte Barrettepithel größtenteils positiv markiert. Beim Klon Ks 7.18 dagegen fand sich ein heterogenes Färbemuster mit unterschiedlich großem Anteil negativer Zellen, und es lag eine im Durchschnitt geringere Färbeintensität vor. Für beide Antikörper gemeinsam aber war, dass sowohl bei den mit Ks 7.18 getesteten Proben, als auch bei denen mit OV-TL 12/30 getesteten – im Gegensatz zum Cytokeratin 20 – keine Unterschiede zwischen der Anfärbbarkeit der Oberflächenzone und der Kryptenzone erkennbar ist.

Tabelle 3.2: Barrettmukosa ohne Dysplasie;

Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 7 (OV-TL 12/30)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100
CK 7 (Ks 7.18)						
1. Quartile		78		83		70
Median	1	90	1	100	1	80
4. Quartile		97		100		100

Graphik 3.2: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30



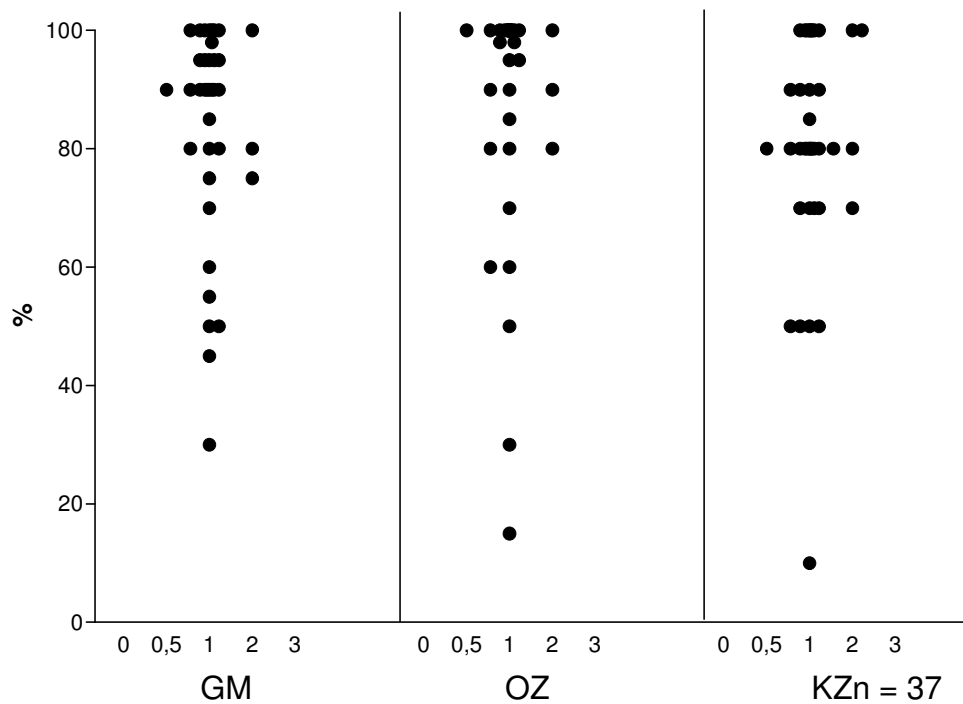
n = 37

nGM 0 = 0, nGM 0,5 = 0, nGM 1 = 7, nGM 2 = 18, nGM 3 = 12

nOZ 0 = 0, nOZ 0,5 = 0, nOZ 1 = 7, nOZ 2 = 17, nOZ 3 = 13

nKZ 0 = 0, nKZ 0,5 = 0, nKZ 1 = 7, nKZ 2 = 19, nKZ 3 = 11

Graphik 3.3: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 7: Ks 7.18



n = 37

nGM 0 = 0, nGM 0,5 = 1, nGM 1 = 33, nGM 2 = 3, nGM 3 = 0

nOZ 0 = 0, nOZ 0,5 = 1, nOZ 1 = 33, nOZ 2 = 3, nOZ 3 = 0

nKZ 0 = 0, nKZ 0,5 = 1, nKZ 1 = 31, nKZ 2 = 5, nKZ 3 = 0

Cytokeratine 8, 18, 19

Sowohl Cytokeratin 8 (CAM 5.2), Cytokeratin 18 (Ks 18.04), als auch Cytokeratin 19 (Ks 19.1) als generelle Cytokeratine von gastrointestinalen und ductalen Zylinderepithelien waren in allen Zonen des Barrettepithels durchweg bei ca. 100% der Zellen positiv. Bei Cytokeratin 8 und Cytokeratin 19 wurden jeweils 13 Fälle gefärbt, bei Cytokeratin 18 alle 37 Fälle.

Tabelle 3.3: Barrettmukosa ohne Dysplasie:

Cytokeratin 8: CAM 5.2, Cytokeratin 18: Ks 18.04, Cytokeratin 19: Ks 19.1

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 8 (CAM 5.2)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100
CK 18 (Ks 18.04)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100
CK 19 (Ks 19.1)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100

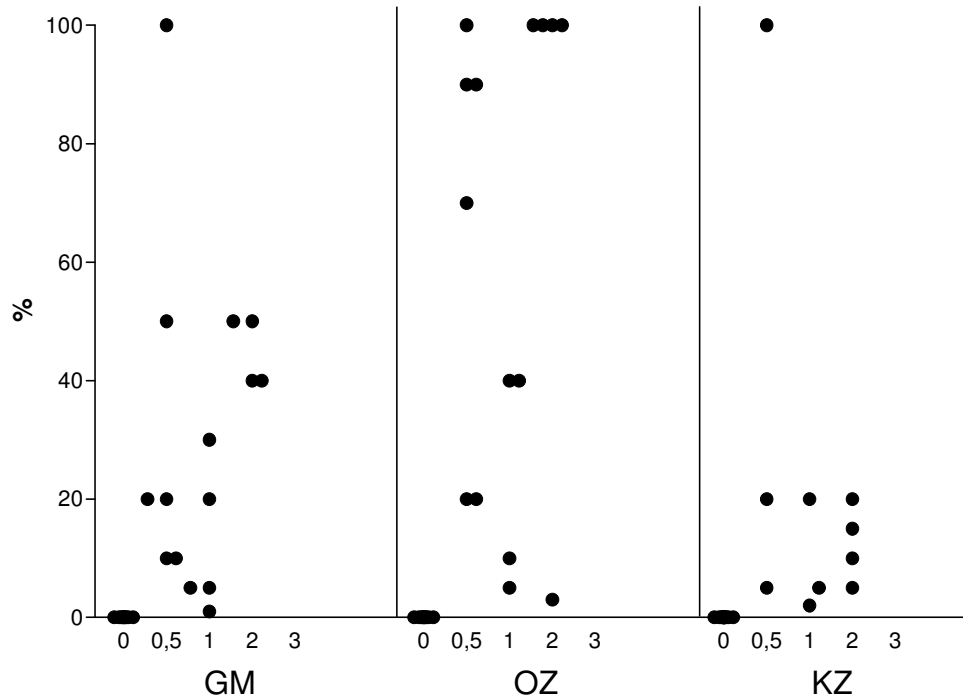
Cytokeratin 17

Das mit dem Antikörper E3 nachgewiesene Cytokeratin 17, welches u. a. in Basal- und Myoepithelzellen von Drüsen vorkommt, hat bei den 25 gefärbten Fällen eine breite Streuung in den Ergebnissen gezeigt. Es waren 10 der Fälle komplett negativ, die anderen jedoch waren in ihrer Verteilung und Färbeintensität sehr variabel. Bei genauerer Betrachtung kann eine Tendenz zur bevorzugten Oberflächenzonenfärbung erkannt werden. Nur ein Fall konnte als komplett gefärbt eingestuft werden.

Tabelle 3.4: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 17: E3

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 17 (E3)						
1. Quartile		0		0		0
Median	0,5	5	0,5	10	0	0
4. Quartile		35		90		7,5

Graphik 3.4: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 17: E3



n = 25

nGM 0 = 10, nGM 0,5 = 6, nGM 1 = 5, nGM 2 = 4, nGM 3 = 0

nOZ 0 = 11, nOZ 0,5 = 6, nOZ 1 = 4, nOZ 2 = 4, nOZ 3 = 0

nKZ 0 = 15, nKZ 0,5 = 3, nKZ 1 = 3, nKZ 2 = 4, nKZ 3 = 0

Cytokeratin 5, Cytokeratin 6

Bei den Färbungen mit den für Plattenepithelien typischen Cytokeratinen Cytokeratin 5 und Cytokeratin 6 wurden überwiegend negative Ergebnisse erzielt: bei Cytokeratin 5 waren 18 von 25 Fällen negativ. Sechs Fälle zeigten sich schwach positiv mit schwacher Färbeintensität in unter 40% der Zellen. Nur ein einziger Fall war insgesamt positiv, bei sehr schwacher Färbeintensität. Bei Cytokeratin 6 waren 10 von 13 gefärbten Präparaten komplett negativ, die restlichen drei Fälle kamen nicht über einen Prozentsatz von 4 der gesamt gefärbten Zellen.

Tabelle 3.5: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 5: D5 /16B4

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 5 (D5/16 B 4)						
1. Quartile		0		0		0
Median	0	0	0	0	0	0
4. Quartile		1		0,5		0

Cytokeratine 4, 13, 14

Die Cytokeratine Cytokeratin 4 (6B10), Cytokeratin 13 (2D7 und Ks 13.1) und Cytokeratin 14 (LL001) konnten nicht, oder nur in Ausnahmen in den 13 überprüften Fällen nachgewiesen werden. Sie sind normalerweise in Plattenepithelien vertreten.

3.1.2. Adhäsionsmoleküle im Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie

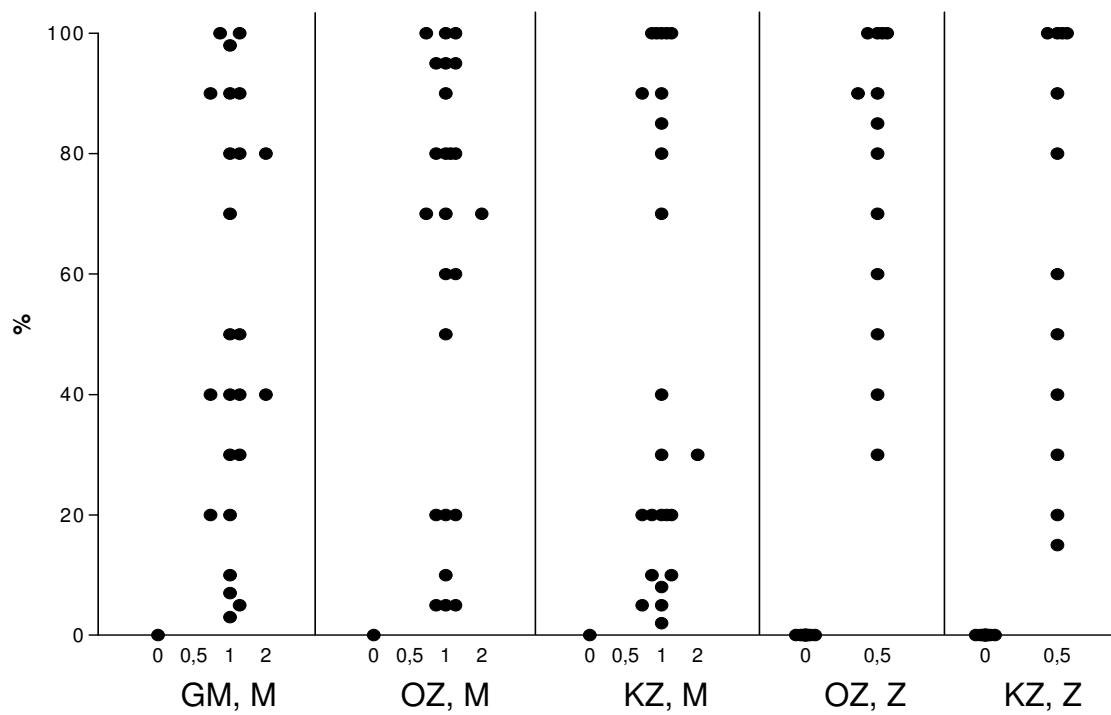
E-Cadherin

Die Bestimmung des E-Cadherin wurde mit zwei verschiedenen Antikörpern durchgeführt: 25 Fälle mit dem Antikörper HECD-1 und 37 Fälle mit 5H9. Die Färbeintensität war im Durchschnitt bei den mit 5H9 gefärbten Präparaten etwas schwächer, dagegen kam es hier zu einer etwas höheren Prozentzahl an gefärbten Zellen. Generell war die E-Cadherin-Färbung – entsprechend der Lokalisation in den Adhärenzverbindungen – membranbetont; das Zytoplasma zeigte zum Teil eine schwache diffuse Färbung. Zwischen den Fällen fand sich eine beträchtliche Streuung. Es waren aber keine wesentlichen Unterschiede zwischen Oberflächenzone und Kryptenzone nachweisbar (allenfalls leichte Betonung der Oberflächenzone).

Tabelle 3.6: Barrettmukosa ohne Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1; 5H9

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
E-Cad (HECD-1)						
1. Quartile		20		20		10
Median	1	40	1	70	1	30
4. Quartile		85		93		90
E-Cad (5H9)						
1. Quartile		2		2,5		1
Median	1	65	1	80	1	60
4. Quartile		100		100		100

Graphik 3.5: Barrettmukosa ohne Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1



n = 25

nGM, M 0 = 1, nGM, M 0,5 = 0, nGM, M 1 = 22, nGM, M 2 = 2

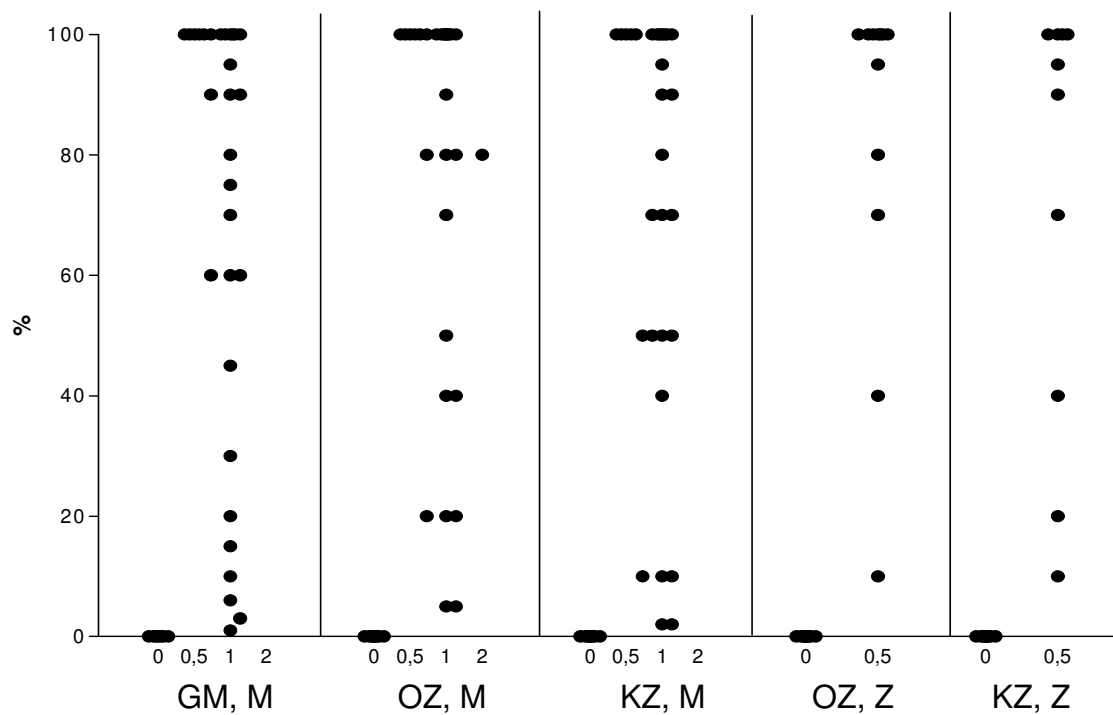
nOZ, M 0 = 1, nOZ, M 0,5 = 0, nOZ, M 1 = 23, nOZ, M 2 = 1

nKZ, M 0 = 1, nKZ, M 0,5 = 0, nKZ, M 1 = 23, nKZ, M 2 = 1

nOZ, Z 0 = 12, nOZ, Z 0,5 = 13

nKZ, Z 0 = 13, nKZ, Z 0,5 = 12

Graphik 3.6: Barrettmukosa ohne Dysplasie; E-Cadherin: 5H9



n = 37

nGM, M 0 = 7, nGM, M 0,5 = 5, nGM, M 1 = 25, nGM, M 2 = 0

nOZ, M 0 = 8, nOZ, M 0,5 = 5, nOZ, M 1 = 23, nOZ, M 2 = 1

nKZ, M 0 = 8, nKZ, M 0,5 = 5, nKZ, M 1 = 24, nKZ, M 2 = 0

nOZ, Z 0 = 25, nOZ, Z 0,5 = 12

nKZ, Z 0 = 27, nKZ, Z 0,5 = 10

Desmoglein 2, Desmocollin 2

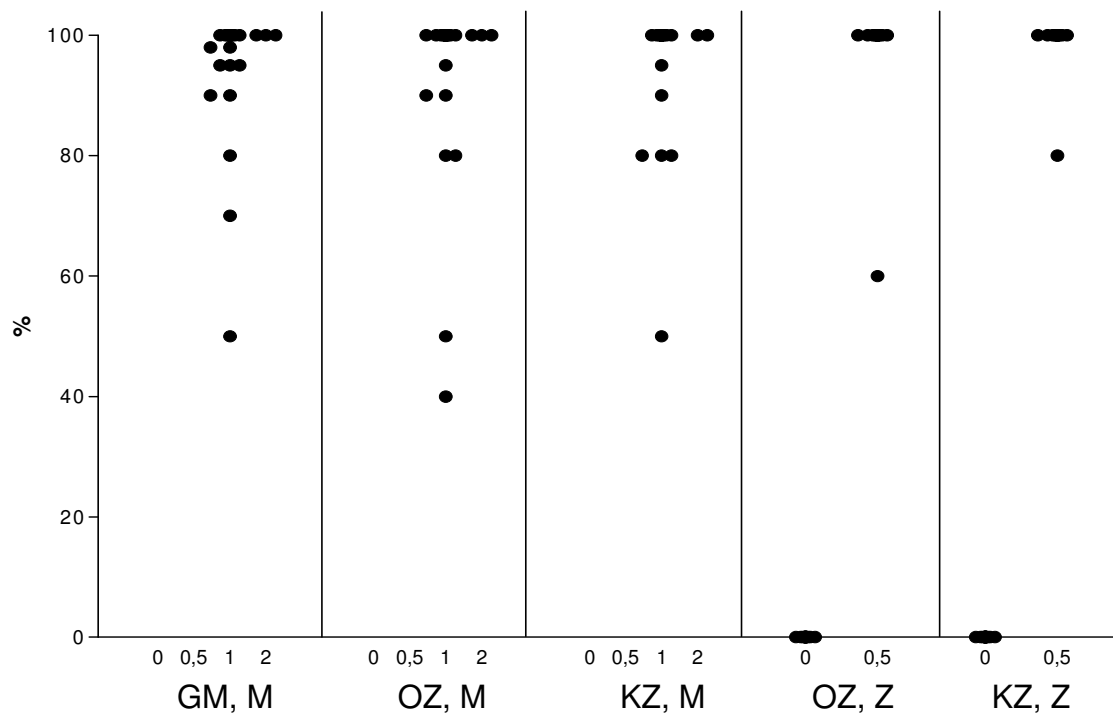
Wie zu erwarten war, waren die sogenannten „ubiquitären“ desmosomalen Cadherine Desmoglein 2 und Desmocollin 2 auch im Barrettepithel der 37 untersuchten Fälle positiv. Insbesondere beim Desmoglein 2, für das ein sensitiver monoklonaler Antikörper zur Verfügung stand, dominierte eine ausgedehnte, fein gepunktete Anfärbung der Membran. Die feinen Pünktchen entsprechen den Desmosomen. Diese fanden sich im Bereich der lateralen Zellmembran meist apikal, seltener über die ganze laterale Membran verteilt. Die mit dem polyklonalen Antikörper gegen Desmocollin 2 erzielten Färbungen waren etwas variabler (jedoch nicht so stark variabel wie in Bezug auf E-Cadherin). Zwischen Oberflächenzone und Kryptenzone konnten keine Unterschiede erkannt werden. Es konnten zum Teil schwache Zytoplasmafärbungen gefunden werden.

Tabelle 3.7: Barrettmukosa ohne Dysplasie;

Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
DSG 2 (Dsg2-G 129)						
1. Quartile		98		100		100
Median	1	100	1	100	1	100
4. Quartile		100		100		100
DSC 2 (rab 36)						
1. Quartile		50		90		25
Median	1	99	1	100	1	95
4. Quartile		100		100		100

Graphik 3.7: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Desmoglein 2: Dsg2-G 129



n = 37

nGM, M 0 = 0, nGM, M 0,5 = 0, nGM, M 1 = 34, nGM, M 2 = 3

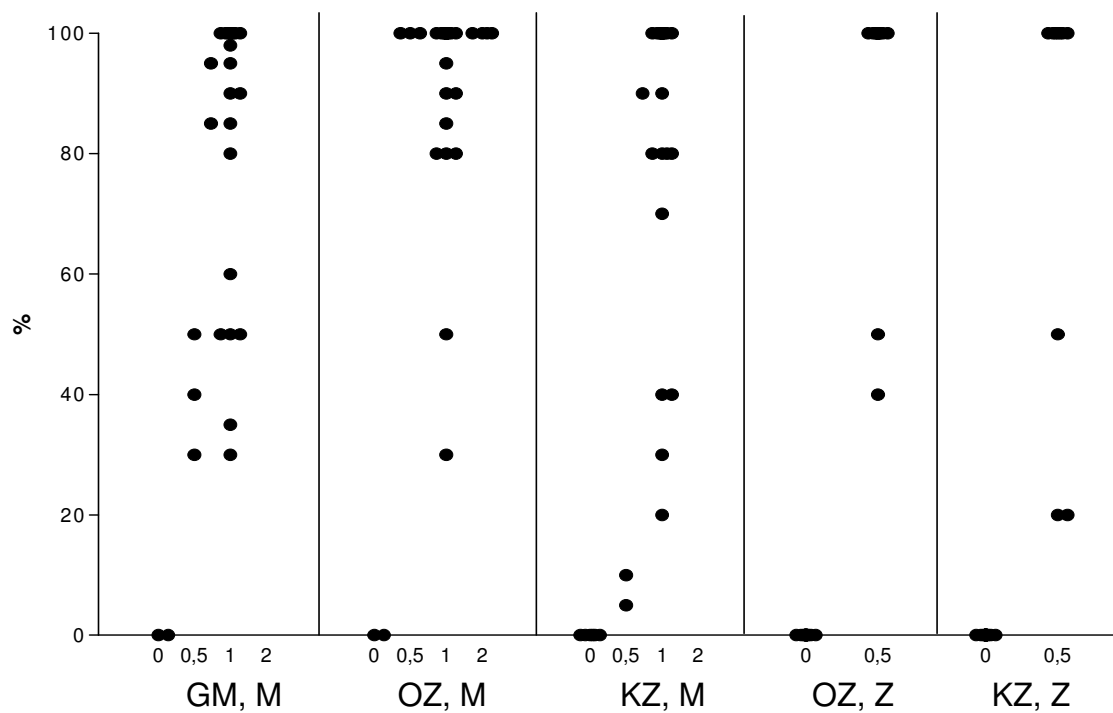
nOZ, M 0 = 0, nOZ, M 0,5 = 0, nOZ, M 1 = 34, nOZ, M 2 = 3

nKZ, M 0 = 0, nKZ, M 0,5 = 0, nKZ, M 1 = 35, nKZ, M 2 = 2

nOZ, Z 0 = 17, nOZ, Z 0,5 = 20

nKZ, Z 0 = 19, nKZ, Z 0,5 = 18

Graphik 3.8: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Desmocollin 2: rab 36



n = 37

nGM, M 0 = 2, nGM, M 0,5 = 3, nGM, M 1 = 32, nGM, M 2 = 0

nOZ, M 0 = 2, nOZ, M 0,5 = 3, nOZ, M 1 = 28, nOZ, M 2 = 4

nKZ, M 0 = 5, nKZ, M 0,5 = 2, nKZ, M 1 = 30, nKZ, M 2 = 0

nOZ, Z 0 = 18, nOZ, Z 0,5 = 19

nKZ, Z 0 = 27, nKZ, Z 0,5 = 10

Desmogleine 1 und 3, Desmocolline 1 und 3

Die Desmogleine 1 und 3 und die Desmocolline 1 und 3, die typischerweise in mehrschichtigen Epithelien exprimiert werden, waren hauptsächlich negativ. Es wurden jeweils 13 Fälle getestet, hiervon war bei Desmoglein 3 kein einziger Fall positiv, bei den anderen Cadherinen fanden sich nur in sehr wenigen Fällen sehr schwache Zytoplasmafärbungen.

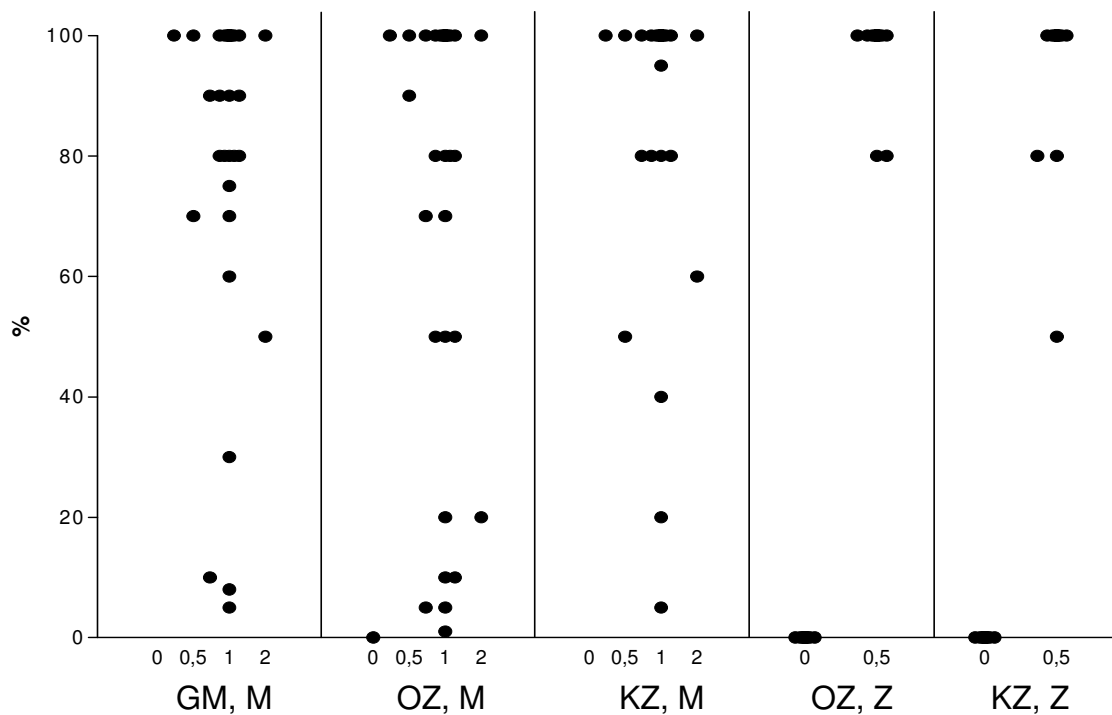
Plakophilin 2

Das Plakophilin 2 fiel in allen 37 Fällen positiv aus, ergab aber in seiner Intensität und Verteilung kein einheitliches Muster. In der Mehrzahl der Fälle fand sich eine ausgedehnte, in anderen eine heterogene, fein gepunktete Membranfärbung, ohne signifikante Unterschiede zwischen Oberfläche und Kryptenzone. Die ausgedehnt nachweisbare, diffuse Zytoplasmafärbung könnte eine Kreuzreaktion darstellen, da sich mit dem verwendeten Antikörper häufig auch andere, desmosomenfreie Gewebsstrukturen diffus markieren.

Tabelle 3.8: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150

Membran- Färbung	Gesamt mukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
PKP 2 (PP2/ 1 50)						
1. Quartile		78		50		88
Median	1	100	1	100	1	100
4. Quartile		100		100		100

Graphik 3.9: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150



n = 37

nGM, M 0 = 2, nGM, M 0,5 = 3, nGM, M 1 = 32, nGM, M 2 = 0

nOZ, M 0 = 2, nOZ, M 0,5 = 3, nOZ, M 1 = 28, nOZ, M 2 = 4

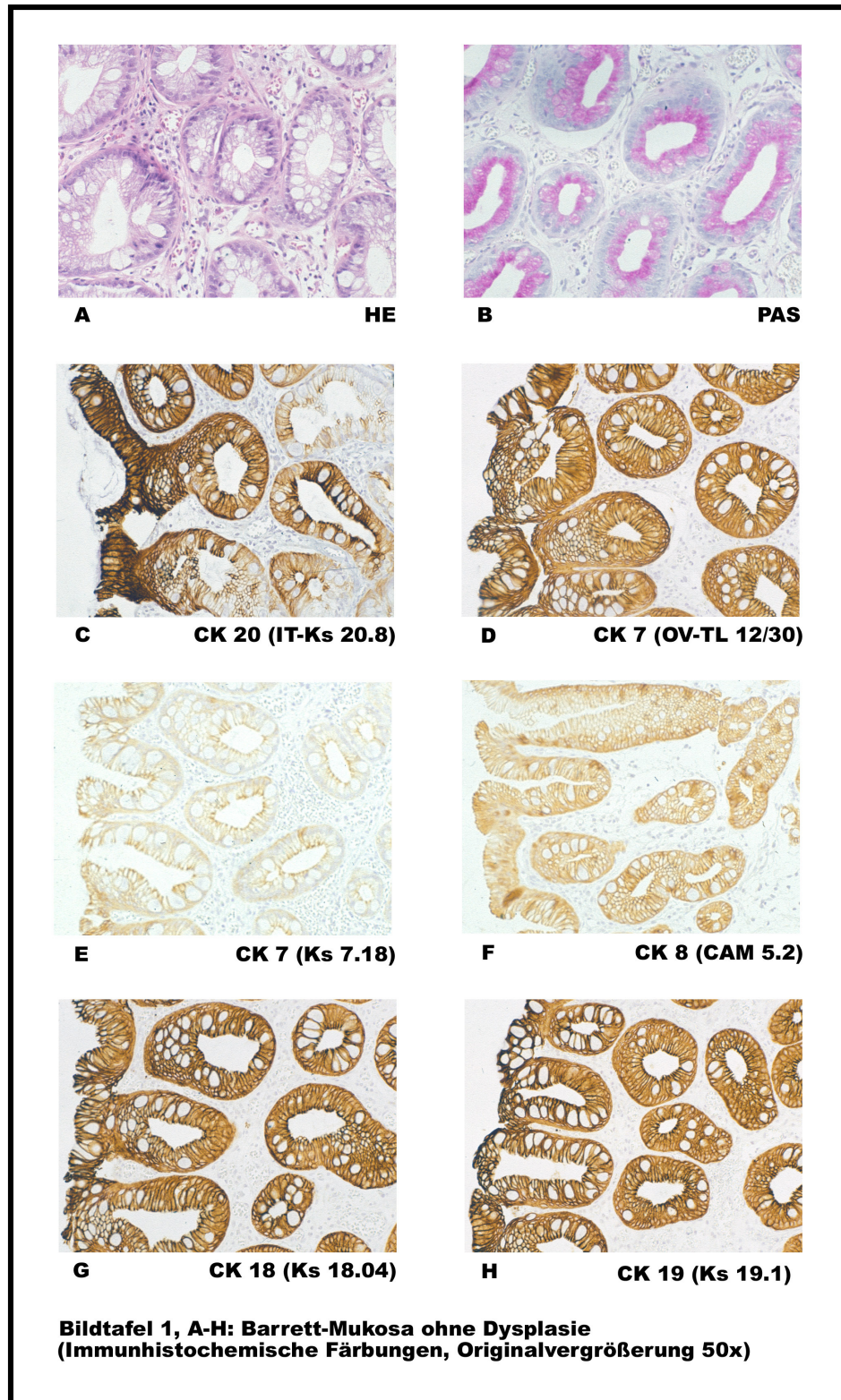
nKZ, M 0 = 5, nKZ, M 0,5 = 2, nKZ, M 1 = 30, nKZ, M 2 = 0

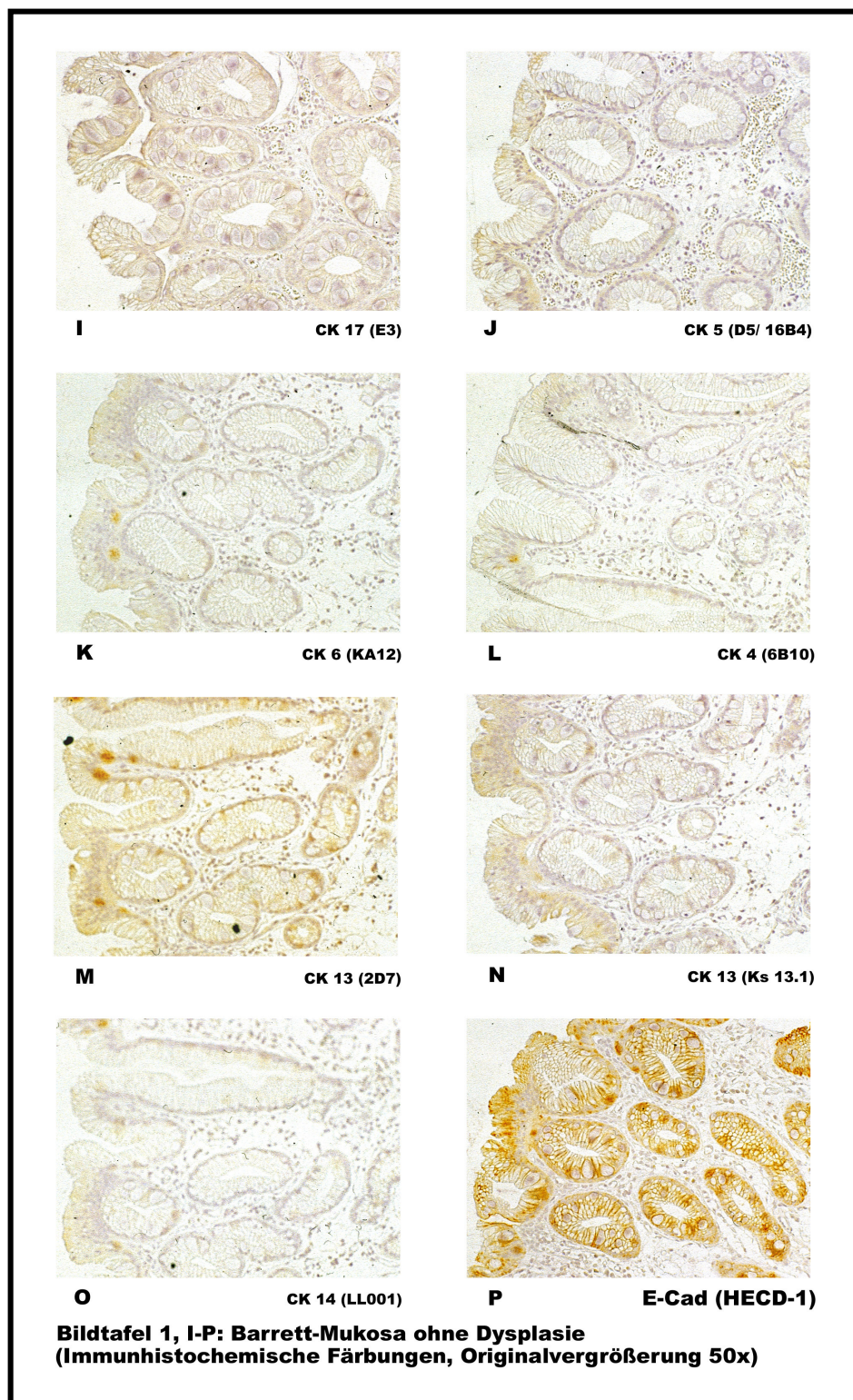
nOZ, Z 0 = 18, nOZ, Z 0,5 = 19

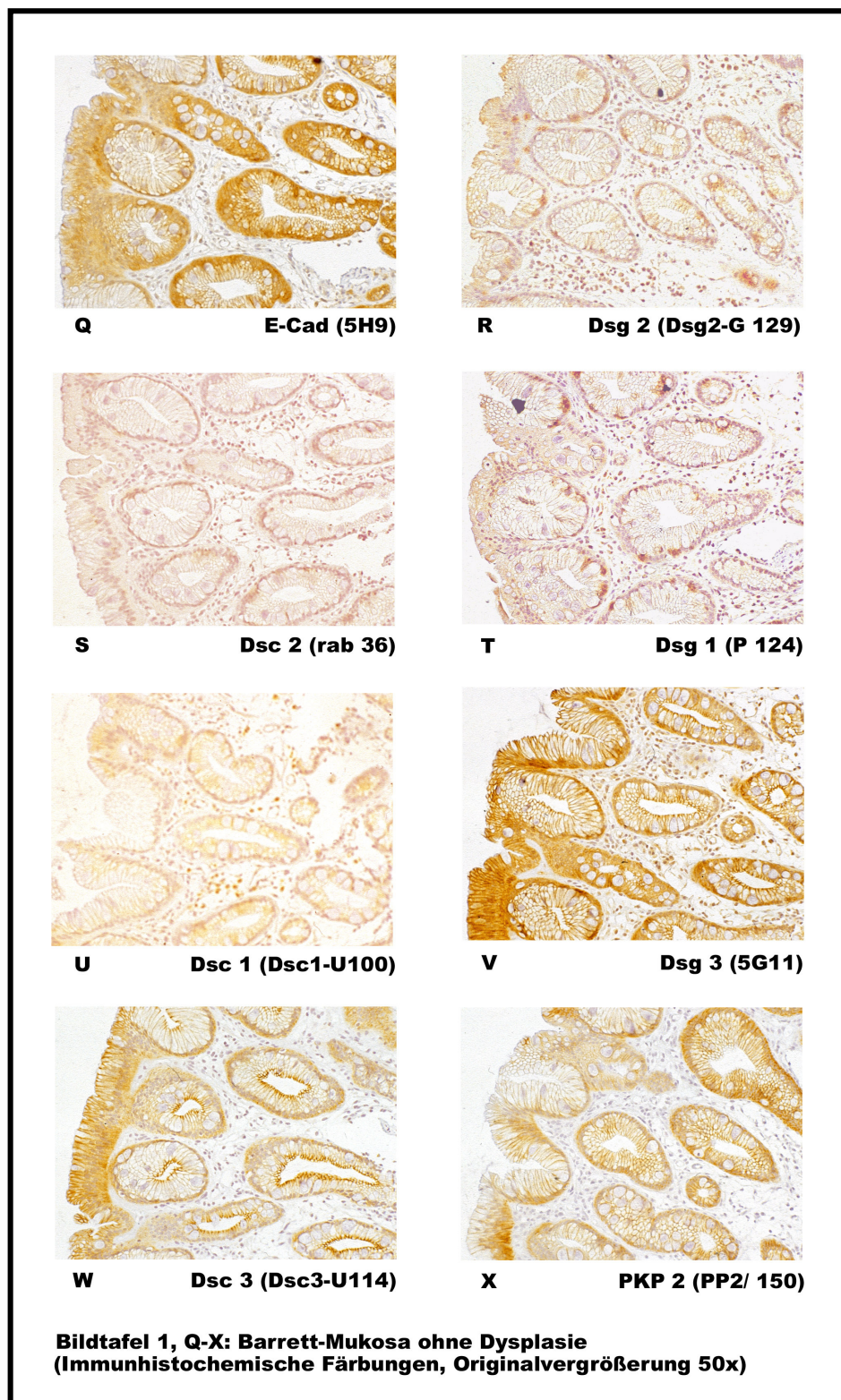
nKZ, Z 0 = 27, nKZ, Z 0,5 = 10

3.1.3. Bildtafeln zum Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie

Bildtafel 1, A-H: Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie



Bildtafel 1, I-P: Barrett- Ösophagus ohne Dysplasie

Bildtafel 1, Q-X: Barrett- Ösophagus ohne Dysplasie

3.2. Low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus

Als low-grade Dysplasie-Präparate wurden insgesamt sechs Fälle von fünf Patienten untersucht. Mit der kompletten Serie an Antikörpern wurden vier Fälle von vier verschiedenen Patienten bearbeitet. Alle low-grade Dysplasie-Präparate stammen aus Bayreuth (Prof. Stolte); die Diagnose wurde von Prof. Moll und Dr. Vieth anhand der aktuell für die Studie angefertigten Schnittpräparate (HE-Färbung und PAS-Färbung) gesichert. Die HE- und PAS-Färbung zeigten typische histologische Befunde einer low-grade Dysplasie mit tubulärer bis tubulo-villöser Architektur, meist vesikulären Kernen (in einem Fall jedoch mit stiftförmigen, Kolonadenom-ähnlichen Kernen), teils PAS-negativen retronukleären Vakuolen sowie Becherzellen.

3.2.1. Cytokeratine in der low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus

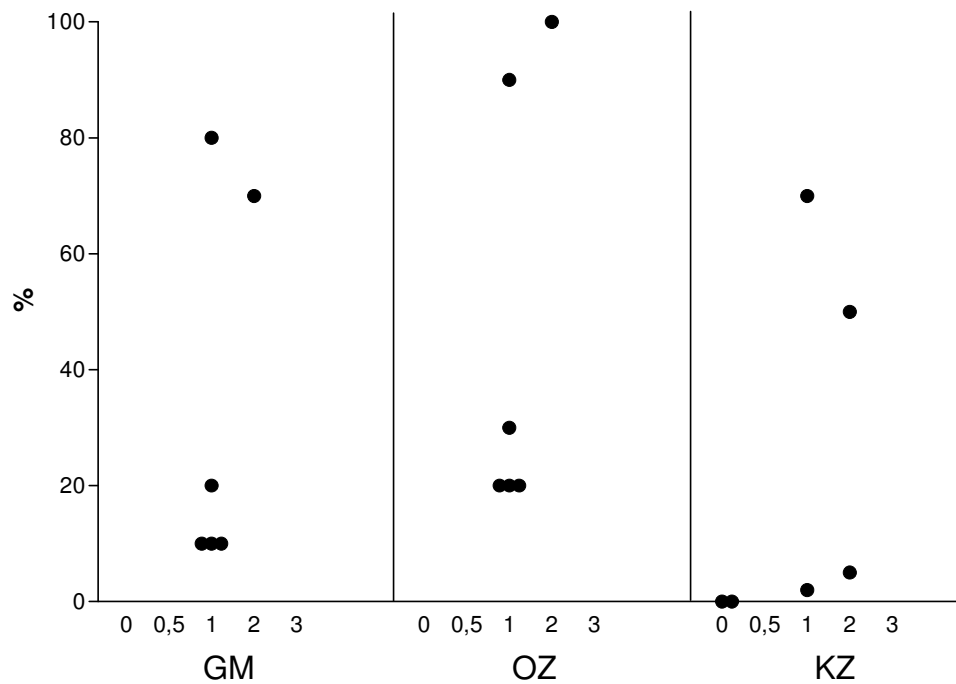
Cytokeratin 20

Beim Cytokeratin 20 konnte immer noch eine typische differentielle Verteilung zwischen Oberflächenzone und Kryptenzone festgestellt werden. Im Vergleich zum Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie konnte man in der Mehrzahl der Fälle (n=4) sowohl bei der Oberflächenzone als auch bei der Kryptenzone einen allgemeinen Rückgang sowohl der Färbeintensität, als auch der Prozentzahl an gefärbten Zellen erkennen. Zwei Fälle zeigten dagegen für beide Zonen deutlich höhere Werte, entsprechend normalem intestinalen Epithel, wobei der oben genannte Kolonadenom-artige Fall zu dieser letzten Gruppe gehörte.

Tabelle 3.9: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie;

Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

	Gesamt mukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 20 (IT-Ks 20.8)						
1. Quartile		10		20		0
Median	1	15	1	25	0,5	4
4. Quartile		75		95		60

Graphik 3.10: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie:Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

n = 6

nGM 0 = 0, nGM 0,5 = 0, nGM 1 = 5, nGM 2 = 1, nGM 3 = 0

nOZ 0 = 0, nOZ 0,5 = 0, nOZ 1 = 5, nOZ 2 = 1, nOZ 3 = 0

nKZ 0 = 2, nKZ 0,5 = 0, nKZ 1 = 2, nKZ 2 = 2, nKZ 3 = 0

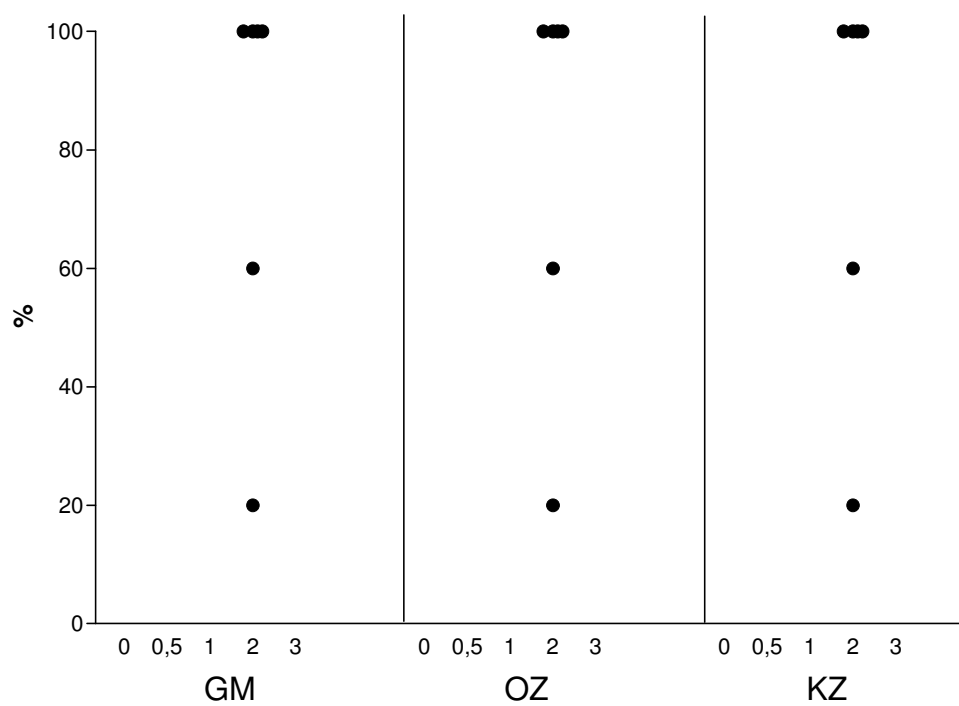
Cytokeratin 7

Es zeigte sich bei 4 der 6 Fälle eine sehr einheitliche und starke Färbung der gesamten Mukosa mit dem Antikörper OV-TL 12/30. Allerdings zeigten die beiden oben aufgeführten stark Cytokeratin 20-positiven Fälle eine deutlich geringere Prozentzahl Cytokeratin-7-positiver Zellen. Mit dem Antikörper Ks 7.18 ergaben sich erwartungsgemäß insgesamt schwächere Färbungen im Vergleich zum Klon OV-TL 12/30.

Tabelle 3.10: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie;

Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 7 (OV-TL 12/30)						
1. Quartile		40		40		40
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100
CK 7 (Ks 7.18)						
1. Quartile		21		26		15
Median	1	75	1	95	1	65
4. Quartile		98		100		100

Graphik 3.11: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie;Cytokeratin 7: OV-TL 12/30

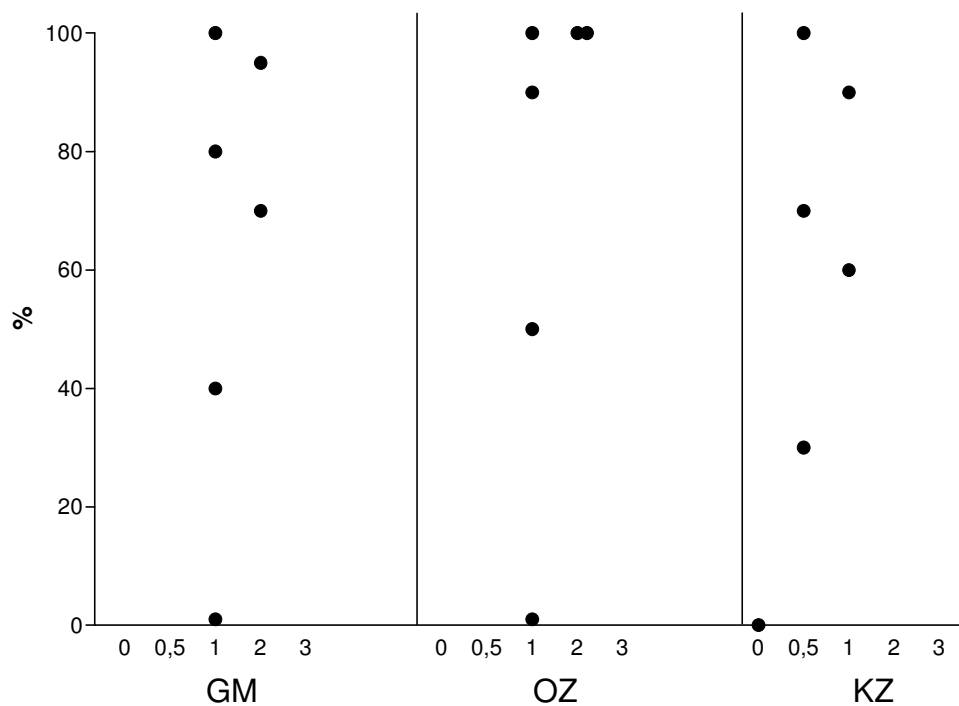
n = 6

nGM 0 = 0, nGM 0,5 = 0, nGM 1 = 0, nGM 2 = 6, nGM 3 = 0

nOZ 0 = 0, nOZ 0,5 = 0, nOZ 1 = 0, nOZ 2 = 6, nOZ 3 = 0

nKZ 0 = 0, nKZ 0,5 = 0, nKZ 1 = 0, nKZ 2 = 6, nKZ 3 = 0

Graphik 3.12: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 7: Ks 17.18



n = 6

nGM 0 = 0, nGM 0,5 = 0, nGM 1 = 4, nGM 2 = 2, nGM 3 = 0

nOZ 0 = 0, nOZ 0,5 = 0, nOZ 1 = 4, nOZ 2 = 2, nOZ 3 = 0

nKZ 0 = 1, nKZ 0,5 = 3, nKZ 1 = 2, nKZ 2 = 0, nKZ 3 = 0

Cytokeratin 8, 18, 19

Die Cytokeratine 8, 18 und 19 waren nahezu einheitlich und stark (in der Regel Stärkegrad 2). Lediglich ein Fall (der zu den Cytokeratin 20-stark positiven Fällen gehörte (siehe oben) zeigte eine leichte Reduktion von Cytokeratin 8 (70%).

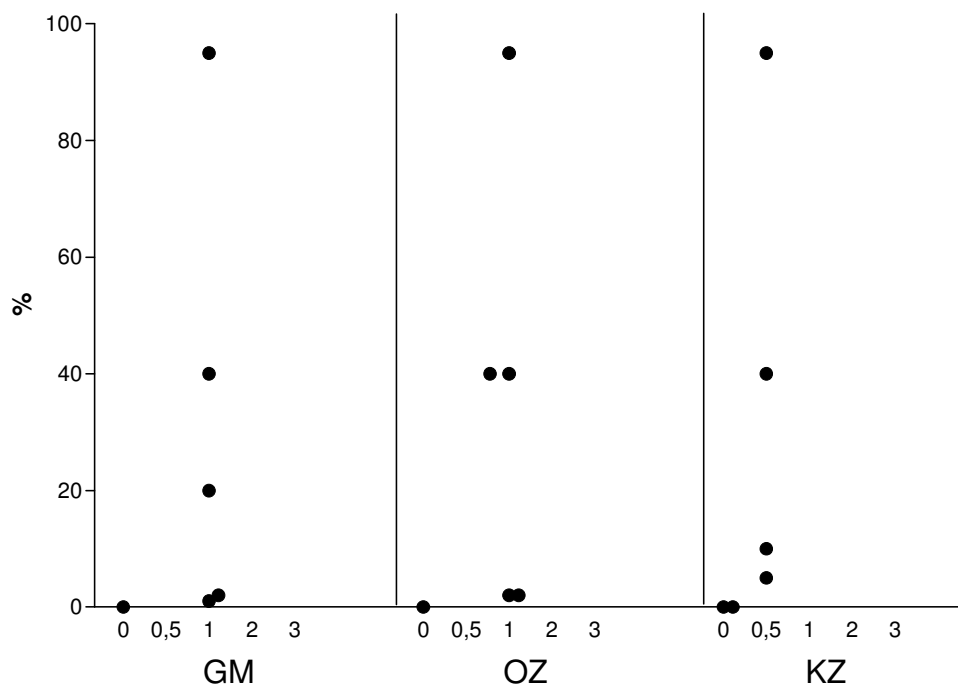
Cytokeratin 17

Die low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus zeigte – wie auch das Barrettepithel ohne Dysplasie – eine breite Streuung der Färbeargebnisse. Die stärkste Reaktion betraf einen der oben genannten stark-Cytokeratin-20-positiven Fälle.

Tabelle 3.11: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 17: E3

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 17 (E3)						
1. Quartile		0,5		1		0
Median	1	11	1	21	1	8
4. Quartile		68		68		68

Graphik 3.13: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 17: E3



n = 6

nGM 0 = 1, nGM 0,5 = 0, nGM 1 = 5, nGM 2 = 2, nGM 3 = 0

nOZ 0 = 1, nOZ 0,5 = 0, nOZ 1 = 5, nOZ 2 = 2, nOZ 3 = 0

nKZ 0 = 2, nKZ 0,5 = 0, nKZ 1 = 4, nKZ 2 = 0, nKZ 3 = 0

Cytokeratin 5, Cytokeratin 6

Die Cytokeratine 5 und 6 waren fast einheitlich negativ. Nur selten konnten gefärbte Areale innerhalb der Präparate gefunden werden. Dies entspricht dem Bild von Cytokeratin 5 und Cytokeratin 6 im Barrettepithel ohne Dysplasie.

Cytokeratine 4, 13, 14

In zwei Fällen der mit Ks 13.1 gefärbten Präparate konnte in der Oberflächennzone eine leichte Färbung weniger Zellen ausfindig gemacht werden. Alle mit den Antikörpern 6 B10 (Cytokeratin 4), 2D7 (Cytokeratin 13), und LL001 (Cytokeratin 14) gefärbten Fälle waren komplett negativ. Dies entsprach in etwa den Ergebnissen des Barrettepithels ohne Dysplasie (hier waren vereinzelt schwach positive Ergebnisse zu verzeichnen).

3.2.2. Adhäsionsmoleküle in der low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus

E-Cadherin

Die Membranfärbung mit den Antikörpern HECD-1 und 5H9 war in der low-grade Dysplasie fast durchwegs sehr ausgedehnt ($\geq 90\%$) und damit im Vergleich zur normalen Barrettschleimhaut einheitlicher.

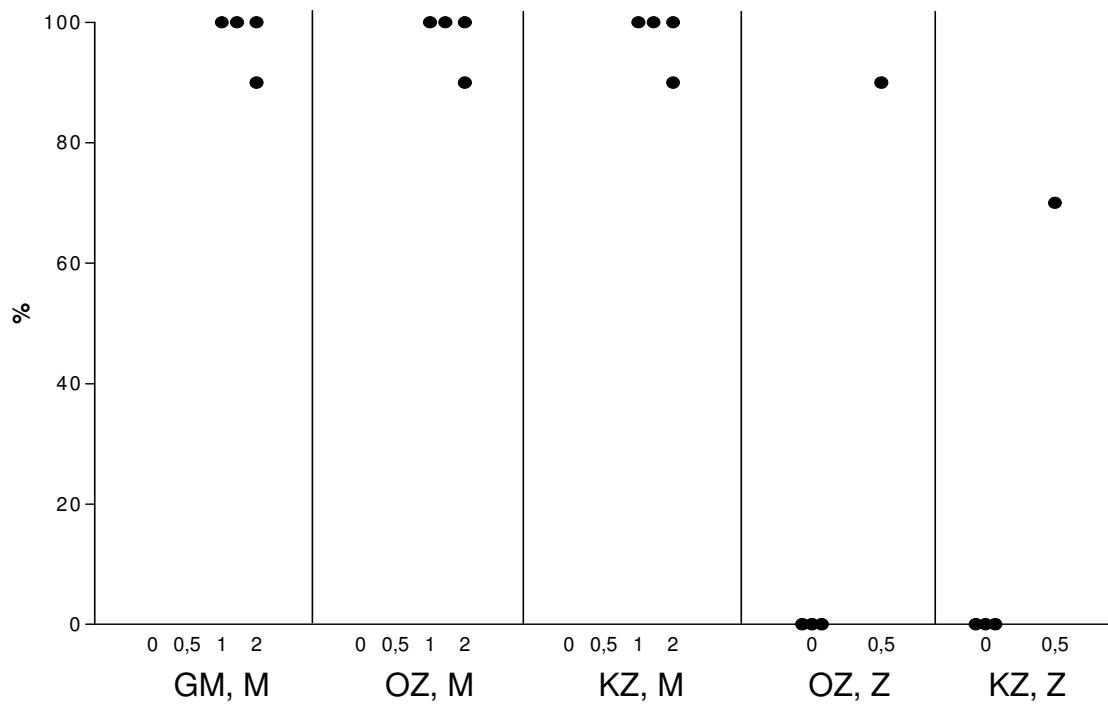
Tabelle 3.12: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie:

E-Cadherin: HECD-1, 5H9

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
E-Cad (HECD-1)						
1. Quartile		x		x		x
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		x		x		x
E-Cad (5H9)						
1. Quartile		85		75		85
Median	1	90	1	90	1	90
4. Quartile		98		100		100

x = die erste und vierte Quartile konnten hier aufgrund der zu geringen Fallzahl nicht berechnet werden.

Graphik 3.14: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1



n = 4

nGM, M 0 = 0, nGM, M 0,5 = 0, nGM, M 1 = 1, nGM, M 2 = 3

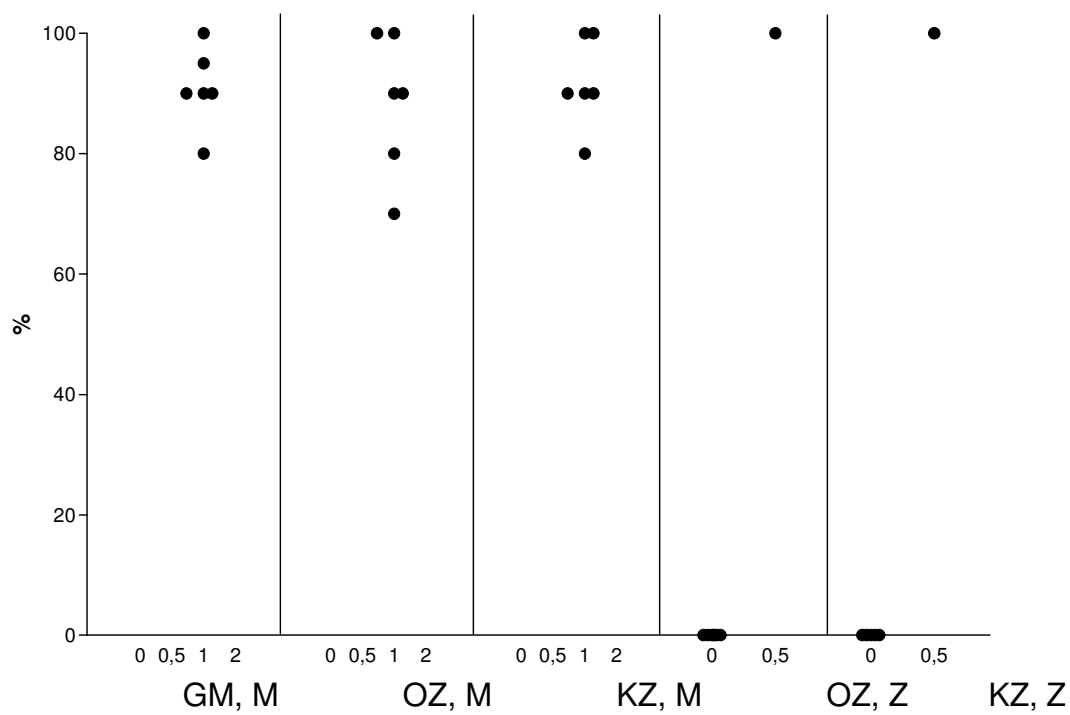
nOZ, M 0 = 0, nOZ, M 0,5 = 0, nOZ, M 1 = 1, nOZ, M 2 = 3

nKZ, M 0 = 0, nKZ, M 0,5 = 0, nKZ, M 1 = 1, nKZ, M 2 = 3

nOZ, Z 0 = 3, nOZ, Z 0,5 = 1

nKZ, Z 0 = 3, nKZ, Z 0,5 = 1

Graphik 3.15: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; E-Cadherin: 5H9



n = 6

nGM, M 0 = 0, nGM, M 0,5 = 0, nGM, M 1 = 6, nGM, M 2 = 0

nOZ, M 0 = 0, nOZ, M 0,5 = 0, nOZ, M 1 = 6, nOZ, M 2 = 0

nKZ, M 0 = 0, nKZ, M 0,5 = 0, nKZ, M 1 = 6, nKZ, M 2 = 0

nOZ, Z 0 = 5, nOZ, Z 0,5 = 1

nKZ, Z 0 = 5, nKZ, Z 0,5 = 1

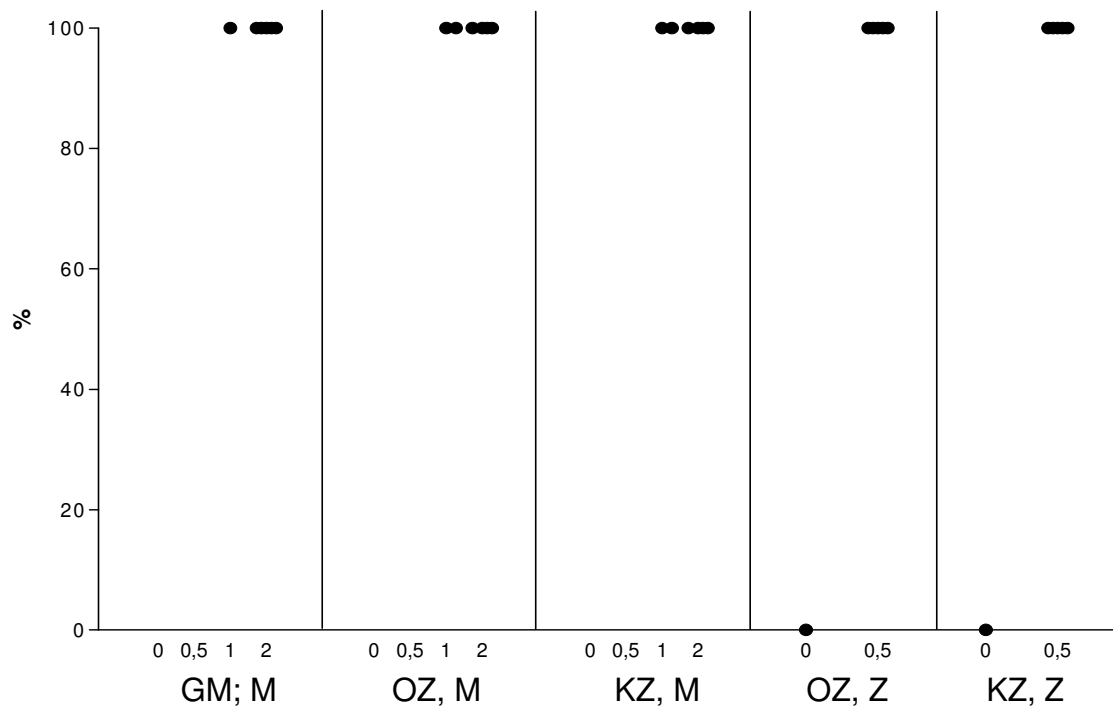
Desmoglein 2, Desmocollin 2

Beim Desmoglein 2 war in allen Fällen der low-grade Dysplasie eine 100-%ige Anfärbung der Epithelstrukturen nachweisbar. Die Membranfärbung zeigte auch hier wie bei der Barrettschleimhaut ohne Dysplasie eine Betonung der apikalen Bereiche der lateralen Zellmembran. Einzelne Fälle wiesen eine komplette Anfärbung der lateralen Membran ohne apikale Betonung auf. Das Zytoplasma zeigte eine leichte diffuse Anfärbung. Desmoglein 2 war somit im Vergleich zur Barrettschleimhaut ohne Dysplasie etwas einheitlicher und stärker. Beim Desmocollin 2 gab es zwei unterschiedliche Arten von Bildern. Entweder waren fast alle der Zellen positiv oder fast keine. Insgesamt war die Färbeintensität im Vergleich zum Desmoglein 2 schwächer, das Bild der apikalen Zellmembranfärbung fand sich auch hier.

Tabelle 3.13: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie;

Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
DSG 2 (Dsg2-G 129)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100
DSC 2 (rab 36)						
1. Quartile		3		8		0
Median	1	30	1	80	1	5
4. Quartile		85		93		80

Graphik 3.16: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie:Desmoglein 2: Dsg2-G 129

n = 6

nGM, M 0 = 0, nGM, M 0,5 = 0, nGM, M 1 = 1, nGM, M 2 = 5

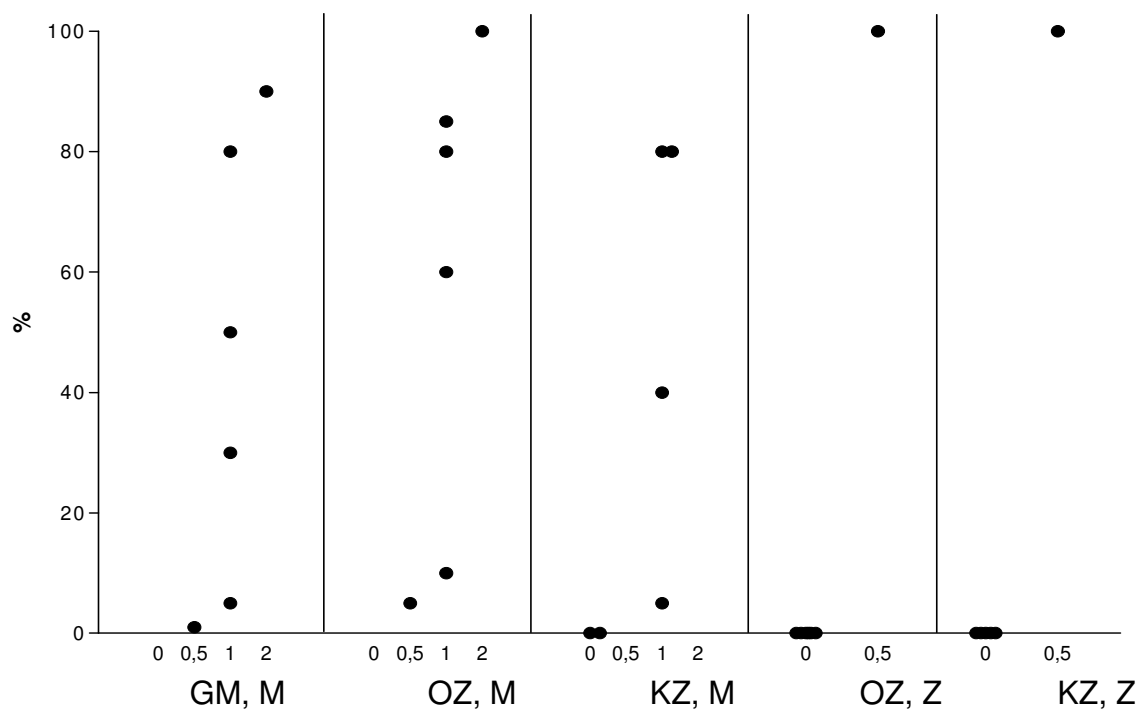
nOZ, M 0 = 0, nOZ, M 0,5 = 0, nOZ, M 1 = 2, nOZ, M 2 = 4

nKZ, M 0 = 0, nKZ, M 0,5 = 0, nKZ, M 1 = 2, nKZ, M 2 = 4

nOZ, Z 0 = 1, nOZ, Z 0,5 = 5

nKZ, Z 0 = 1, nKZ, Z 0,5 = 5

Graphik 3.17: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Desmocollin 2: rab 36



n = 6

nGM, M 0 = 0, nGM, M 0,5 = 1, nGM, M 1 = 4, nGM, M 2 = 1

nOZ, M 0 = 0, nOZ, M 0,5 = 1, nOZ, M 1 = 4, nOZ, M 2 = 1

nKZ, M 0 = 2, nKZ, M 0,5 = 0, nKZ, M 1 = 4, nKZ, M 2 = 0

nOZ, Z 0 = 5, nOZ, Z 0,5 = 1

nKZ, Z 0 = 5, nKZ, Z 0,5 = 1

Desmogleine 1 und 3, Desmocolline 1 und 3

Alle hier untersuchten Antikörper konnten als komplett negativ beschrieben werden.

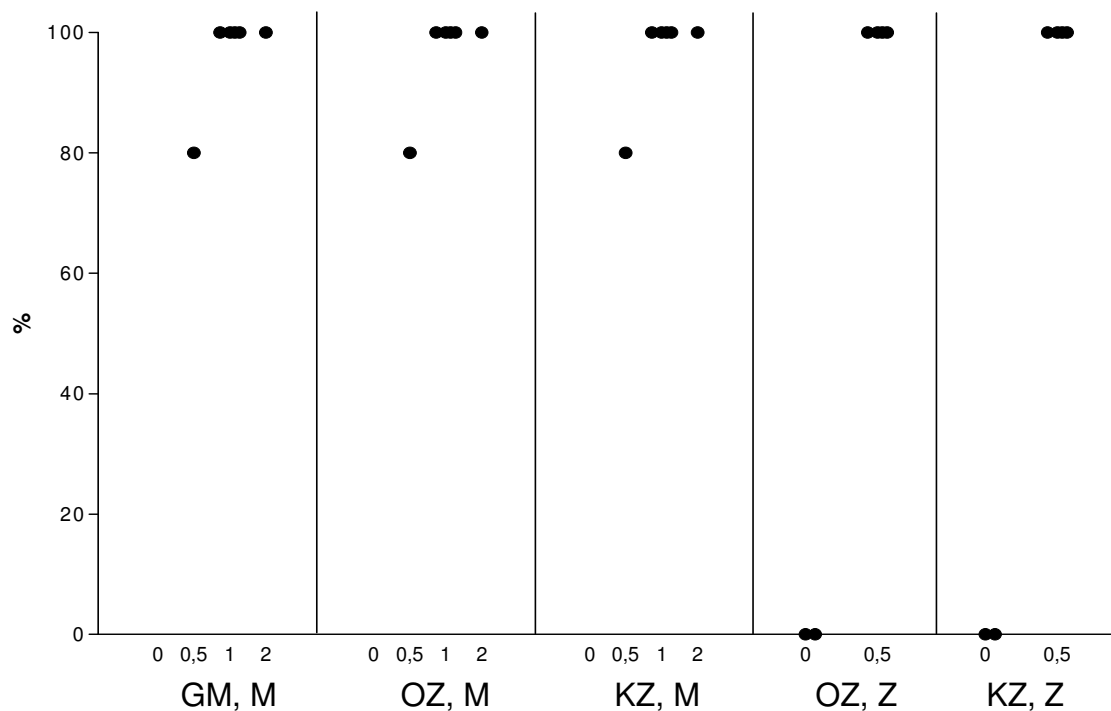
Plakophilin 2

Auch beim Plakophilin 2 waren die Ergebnisse sehr einheitlich und über das ganze Epithel ausgedehnt im Vergleich zur Barrettschleimhaut ohne Dysplasie. Fast alle Fälle erreichten einen Wert von 100% der gefärbten Zellen. Meist waren sowohl Zellmembranen als auch Zytoplasma gefärbt, wobei die Signifikanz der Zytoplasmafärbung noch unklar ist (siehe oben).

Tabelle 3.14: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150

Membran- Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
PKP 2 (PP2/150)						
1. Quartile		90		90		90
Median	1	100	1	100	1	100
4. Quartile		100		100		100

Graphik 3.18: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150



n = 6

nGM, M 0 = 0, nGM, M 0,5 = 1, nGM, M 1 = 4, nGM, M 2 = 1

nOZ, M 0 = 0, nOZ, M 0,5 = 1, nOZ, M 1 = 4, nOZ, M 2 = 1

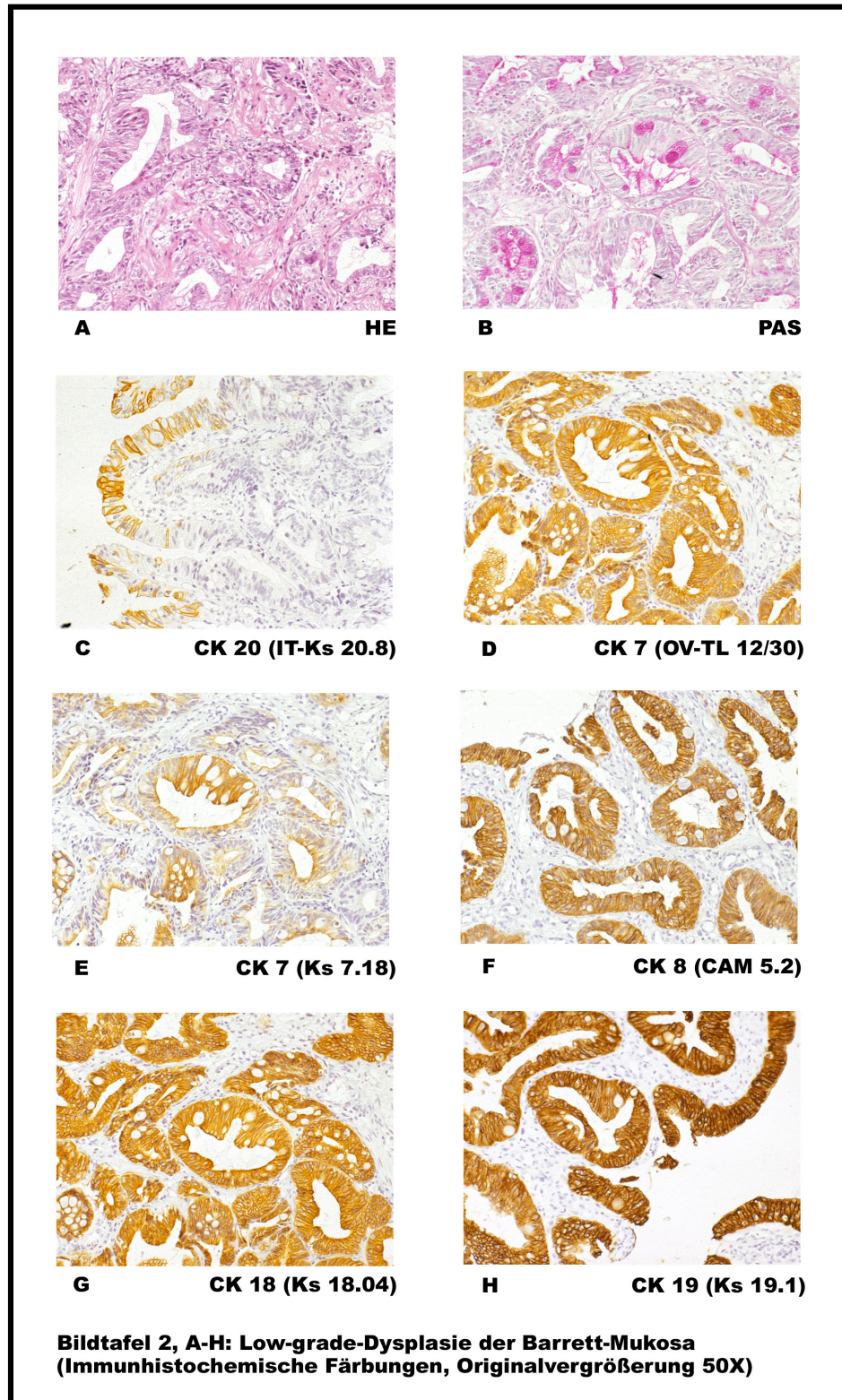
nKZ, M 0 = 0, nKZ, M 0,5 = 1, nKZ, M 1 = 4, nKZ, M 2 = 1

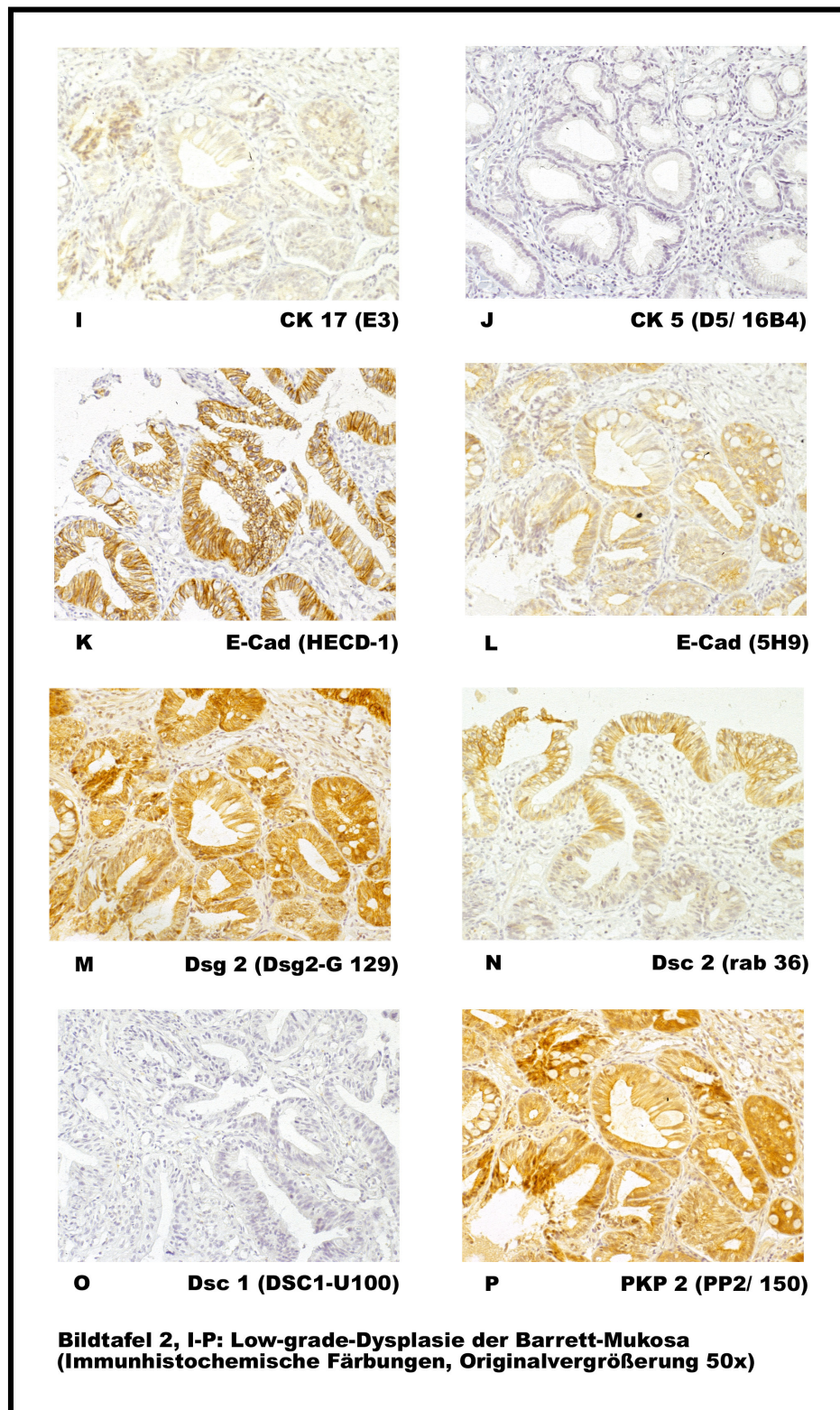
nOZ, Z 0 = 2, nOZ, Z 0,5 = 4

nKZ, Z 0 = 2, nKZ, Z 0,5 = 4

3.2.3. Bildtafeln zur low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus

Bildtafel 2, A-H: Low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus



Bildtafel 2, I-P: Low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus

3.3. Barrett-Karzinom

Beim Barrett-Karzinom wurden 10 Fälle von 10 Patienten untersucht. Hierbei wurde nur die Standard-Serie an Antikörpern verwendet. Prof. Moll und Dr. Vieth haben die Fälle auf ihre Morphologie hin überprüft. Bei den Barrett-Karzinomen konnte morphologisch eine Oberflächenzone und eine Kryptenzone nicht unterschieden werden. Es handelte sich meist um tubuläres, z.T. auch um solides bis tubuläres oder tubulopapilläres Tumorgewebe. Sechs Fälle waren Magen-Karzinom-ähnlich (intestinaler Typ des Magenkarzinoms) und durch unterschiedlich ausgeprägte Hellzelligkeit charakterisiert. Zwei Fälle waren Kolon-Karzinom-ähnlich und eosinophilzellig. Ein Fall schien Barrettepithel-ähnlich. Selten fanden sich Becherzellen. Das Grading lag zwischen G1 und G3 (G1: n=2; G2: n=6; G3: n=2).

O = Magen-Karzinom-ähnlich

● = Kolon-Karzinom-ähnlich

● = Barrettepithel-ähnlich

3.3.1. Cytokeratine im Barrett-Karzinom

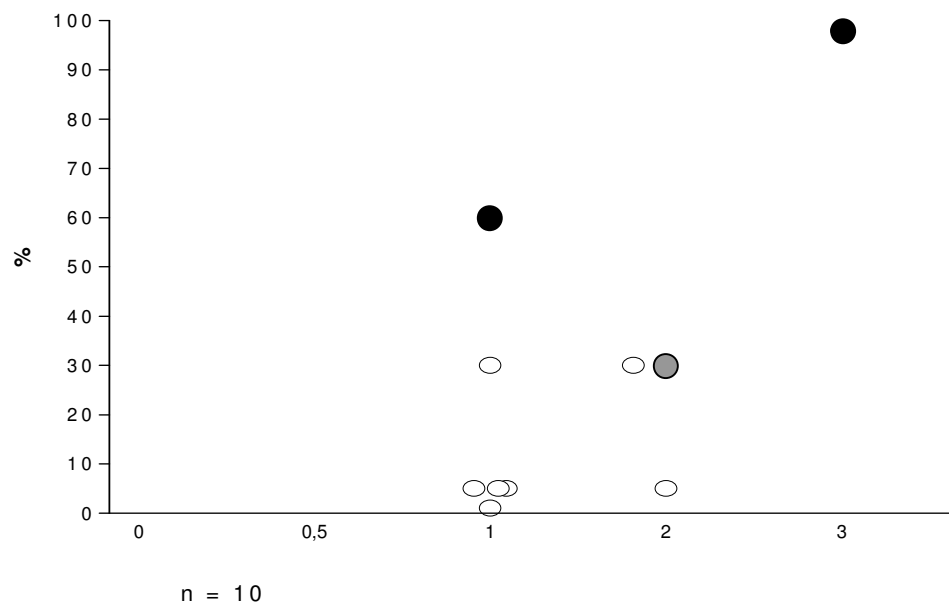
Cytokeratin 20

Im Vergleich der Werte des Barrett-Karzinoms mit denen des Barrettepithels ohne Dysplasie wurden auch hier deutlich reduzierte Cytokeratin-20-Werte gefunden. Den höchsten Färbegrad zeigten die dem Kolon-Karzinom ähnlichen Fälle.

Tabelle 3.15: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

	Stärke	%
CK 20 (IT-Ks 20.8)		
1. Quartile		8
Median	1	20
4. Quartile		70

Graphik 3.19: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8



n = 10

n 0 = 0, n 0,5 = 0, n 1 = 6, n 2 = 3, n 3 = 1

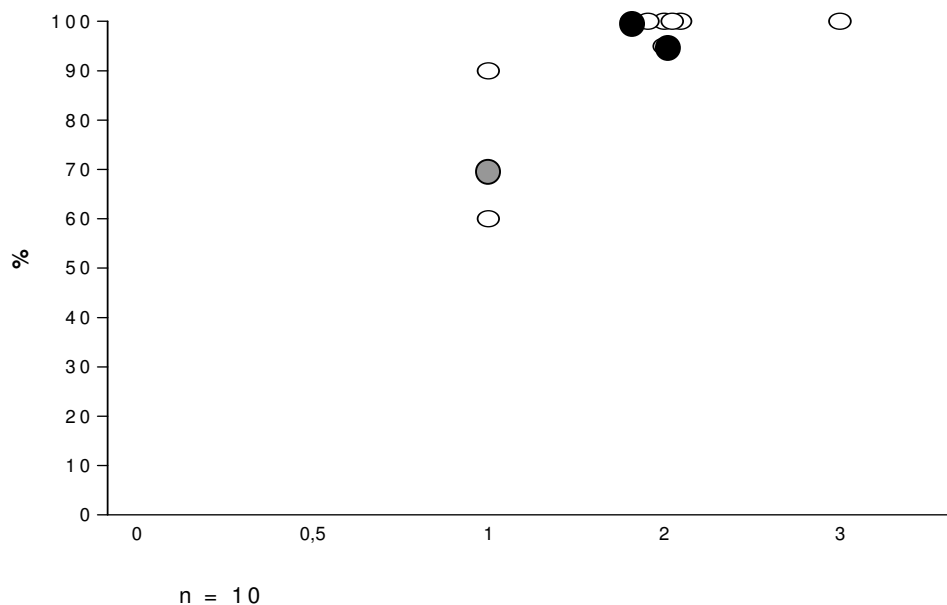
Cytokeratin 7

Bei den Antikörpern OV-TL 12/30 und Ks 7.18 konnte folgendes festgestellt werden: Die Werte des OV-TL 12/30 lagen beim Barrett-Karzinom überwiegend im hohen Bereich. Beim Ks 7.18 war wieder eine verstärkte Streuung festzustellen. Die Kolon-Karzinom-ähnlichen Fälle zeigten nicht nur beim OV-TL 12/30, sondern auch beim Ks 7.18 jeweils ausgedehnte Färbungen.

Tabelle 3.16: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18

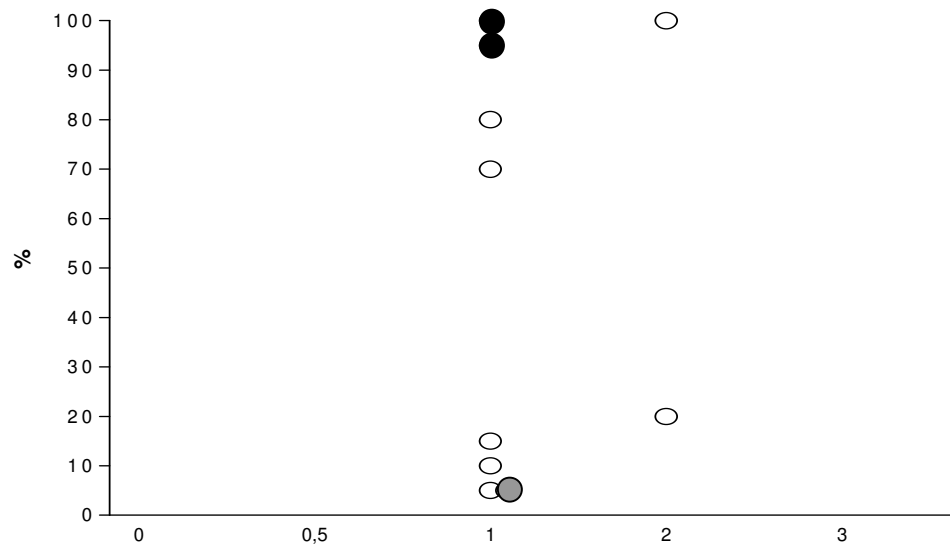
	Stärke	%
CK 7 (OV-TL 12/30)		
1. Quartile		80
Median	2	100
4. Quartile		100
CK 7 (Ks 7.18)		
1. Quartile		8
Median	1	45
4. Quartile		98

Graphik 3.20: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30



n = 10

n 0 = 0, n 0,5 = 0, n 1 = 3, n 2 = 6, n 3 = 1

Graphik 3.21: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 7: Ks 7.18

n = 10

n = 10

n 0 = 0, n 0,5 = 0, n 1 = 8, n 2 = 2, n 3 = 0

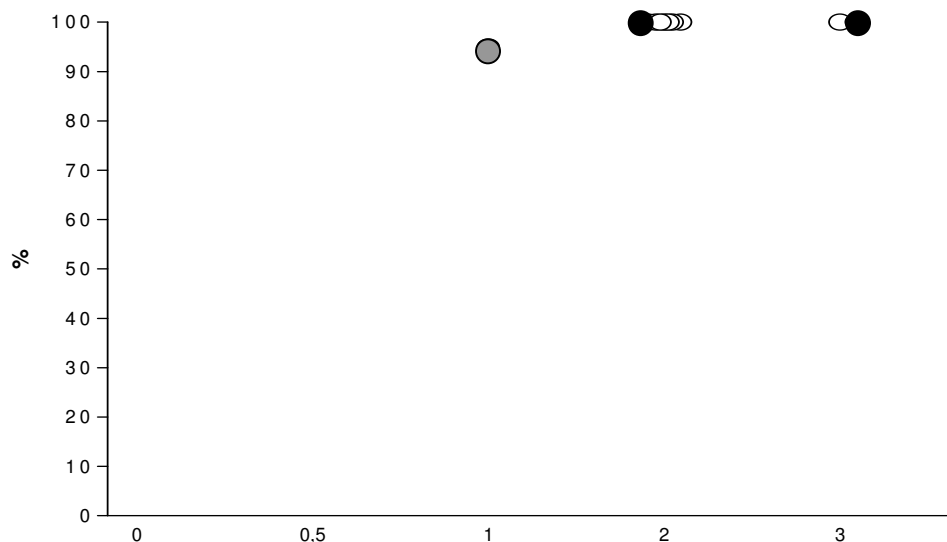
Cytokeratin 18

Auch bei Cytokeratin 18 im Barrett-Karzinom war eine einheitliche Färbung (fast) aller Zellen zu verzeichnen. Die einzige Ausnahme mit schwächerer Färbeintensität und nur 95% gefärbten Zellen wurde als der Barrett-ähnliche Karzinom-Fall identifiziert.

Tabelle 3.17: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 18: Ks 18.04

	Stärke	%
CK 18 (Ks 18.04)		
1. Quartile		100
Median	2	100
4. Quartile		100

Graphik 3.22: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 18: Ks 18.04



n = 10

n = 10

n 0 = 0, n 0,5 = 0, n 1 = 1, n 2 = 7, n 3 = 2

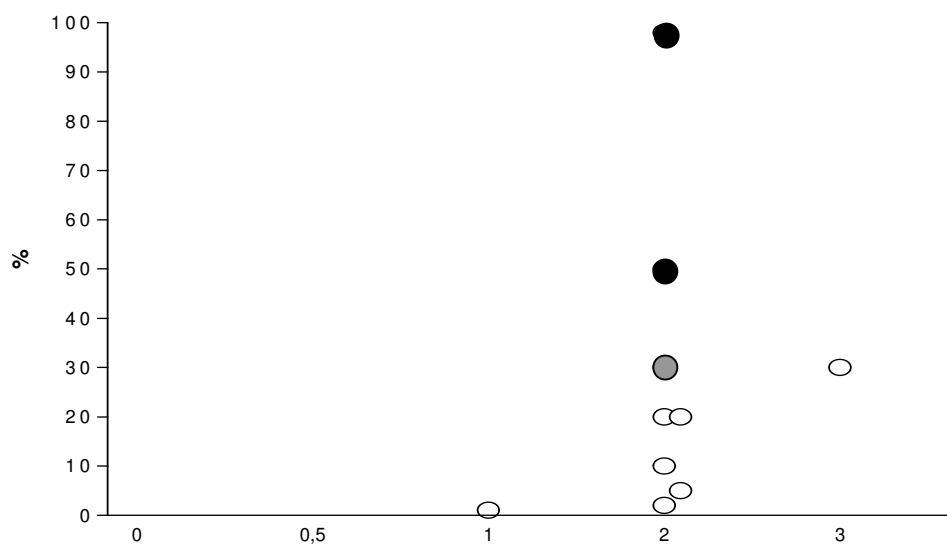
Cytokeratin 17

Wie bereits beim Barrettepithel ohne Dysplasie und bei der low-grade Dysplasie fand sich auch beim Barrett-Karzinom eine deutliche Streuung der Cytokeratin-17-Werte. Die höchste Cytokeratin-17-Färbung ergab sich bei den beiden Kolon-Karzinom-ähnlichen Fällen.

Tabelle 3.18: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 17: E3

	Stärke	%
CK 17 (E3)		
1. Quartile		4
Median	2	20
4. Quartile		40

Graphik 3.23: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 17: E3



n = 10

n = 10

n 0 = 0, n 0,5 = 0, n 1 = 1, n 2 = 8, n 3 = 1

Cytokeratin 5

Acht der zehn mit D5/16B5 gefärbten Fälle waren komplett negativ. Die beiden positiven blieben bei einer Färbeintensität von 1 jedoch auch unter 10%. Einer dieser Fälle konnte den Kolon-Karzinom-ähnlichen Befunden zugeordnet werden.

3.3.2. Adhäsionsmoleküle im Barrett-Karzinom

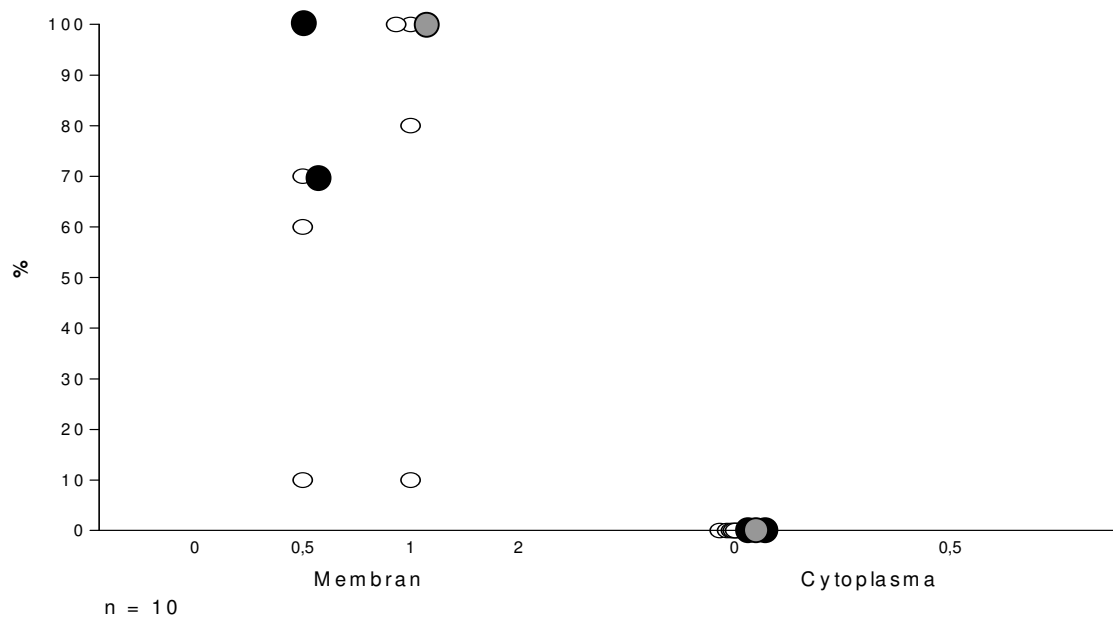
E-Cadherin

Die mit 5H9 gefärbten Fälle des Barrett-Karzinoms zeigten eine relativ schwache Membranfärbung mit weiter Streuung der Prozentzahlen. Die Kolon-Karzinom- und Barrettepithel-ähnlichen Fälle wiesen keine klaren Unterschiede gegenüber den Magen-Karzinom-ähnlichen auf.

Tabelle 3.19: Barrett-Karzinom; E-Cadherin: 5H9

	Membranfärbung	
	Stärke	%
E-Cad (5H9)		
1. Quartile		35
Median	0,8	75
4. Quartile		100

Graphik 3.24: Barrett-Karzinom; E-Cadherin: 5H9



n = 10

M 0 = 0, M 0,5 = 4, M 1 = 5, M 2 = 0

C 0 = 10, C 0,5 = 0

Desmoglein 2, Desmocollin 2

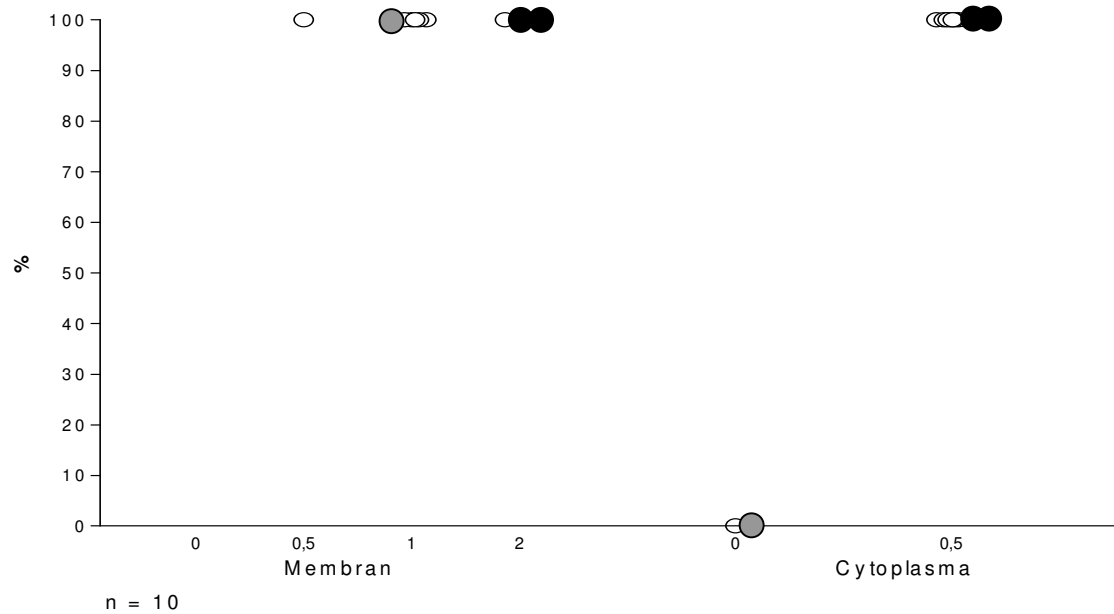
In der Färbung mit Desmoglein 2 zeigte sich beim Barrett-Karzinom – ähnlich der low-grade Dysplasie – in allen Fällen eine deutlich positive Reaktion über dem gesamten Tumorgewebe. Alle Fälle wiesen nahezu 100% in den Zellmembranen gefärbte Zellen auf, waren jedoch unterschiedlich im zellulären Verteilungsmuster der meist punktförmigen Reaktionen. Während in vier Fällen die Membranreaktion betont apikal war, fand sich in drei Fällen eine sowohl apikal als auch laterale Reaktion. In drei weiteren Fällen war die Membranreaktion fast ausschließlich lateral ausgebildet ohne eine apikale Betonung. In einem der letzteren Fälle fanden sich zusätzlich im Cytoplasma globuläre Plaques, die für Desmoglein 2 stark positiv waren. Im Übrigen war das Cytoplasma negativ oder nur schwach gefärbt. Die beiden Kolon-Karzinom-ähnlichen Fälle zeigten ein apikal-laterales bzw. laterales Muster, der Barrett-ähnliche Fall ein apikales Muster. In den Magen-Karzinom-ähnlichen Fällen waren alle Muster vertreten, einschließlich des Falles mit den globulären Plaques.

Beim Desmocollin 2 waren die Anteile der positiven Zellen mit der Membranfärbung sehr variabel, vergleichbar mit den Ergebnissen bei der low-grade Dysplasie, wobei jedoch die Färbeintensität im Allgemeinen deutlich reduziert war. Die beiden dem Kolon-Karzinom ähnlichen Fälle zeigten bei der Färbung mit Desmocollin 2 gegenläufige Ergebnisse. Einer der Fälle war komplett negativ, der andere Fall dagegen wies 100%-ige Anfärbung der Zellen auf, ebenso wie der Barrett-ähnliche Fall.

Tabelle 3.20: Barrett-Karzinom;

Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36

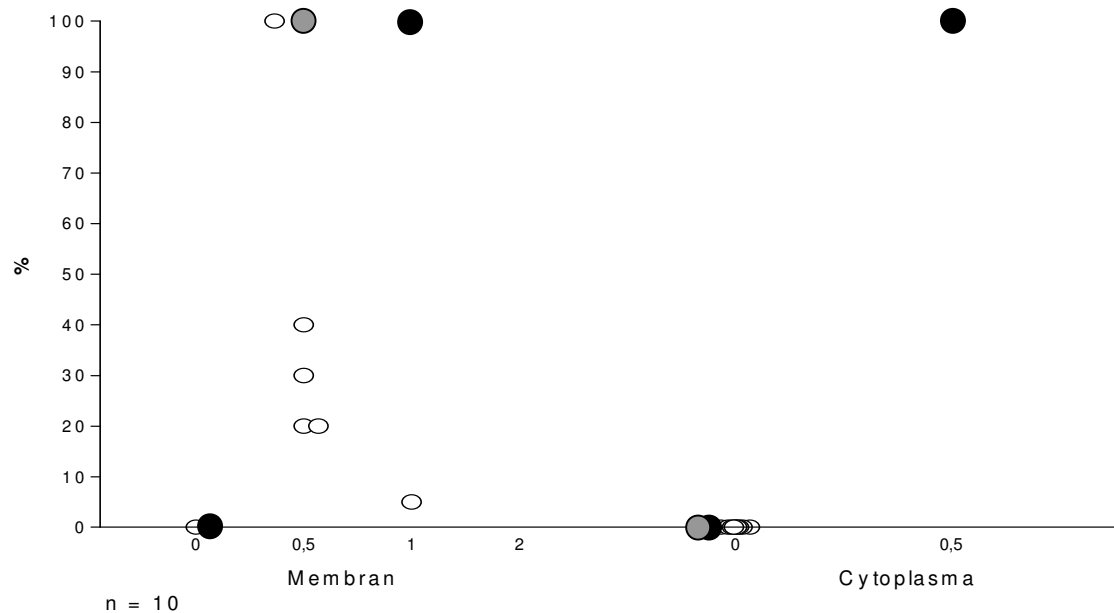
	Membranfärbung	
	Stärke	%
DSG 2 (Dsg2-G 129)		
1. Quartile		100
Median	1	100
4. Quartile		100
DSC 2 (rab 36)		
1. Quartile		3
Median	0,5	25
4. Quartile		100

Graphik 3.25: Barrett-Karzinom; Desmoglein 2: Dsg2-G 129

n = 10

M 0 = 0, M 0,5 = 1, M 1 = 6, M 2 = 3

C 0 = 2, C 0,5 = 8

Graphik 3.26: Barrett-Karzinom; Desmocollin 2: rab 36

n = 10

M 0 = 2, M 0,5 = 6, M 1 = 2, M 2 = 0

C 0 = 9, C 0,5 = 1

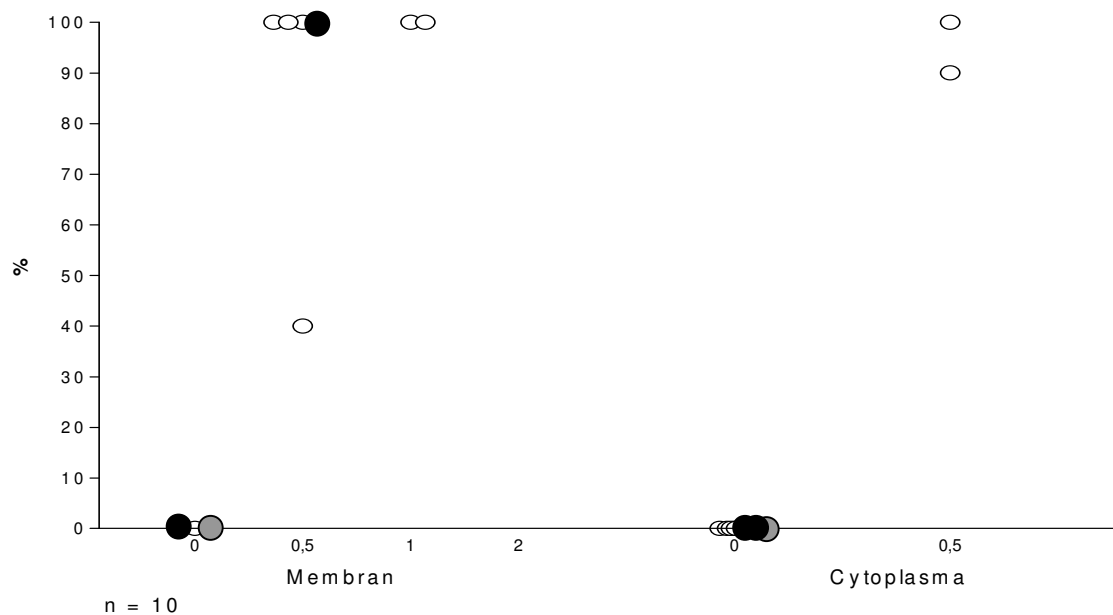
Plakophilin 2

In der Mehrzahl der Fälle fand sich eine einheitliche Membranfärbung aller Tumorzellen für Plakophilin 2. Es waren jedoch auch drei komplett negative Fälle zu verzeichnen, zu denen jeweils auch einer der Kolon-Karzinom-ähnlichen und der Barrett-ähnliche Fall zählen.

Tabelle 3.21: Barrett-Karzinom; Plakophilin 2: PP2/150

	Membranfärbung	
	Stärke	%
PKP 2 (PP2/150)		
1. Quartile		0
Median	0,5	100
4. Quartile		100

Graphik 3.27: Barrett-Karzinom; Plakophilin 2: PP2/150



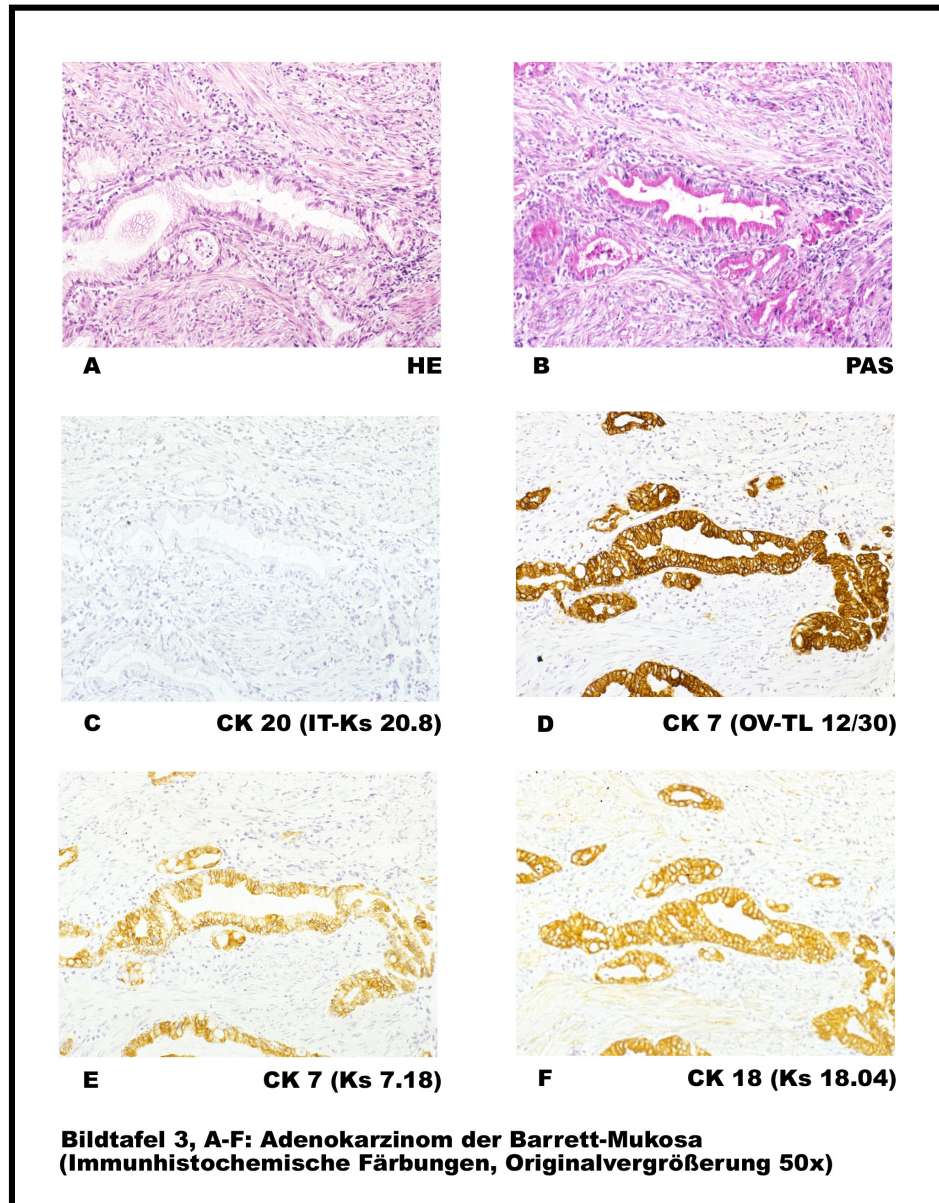
n = 10

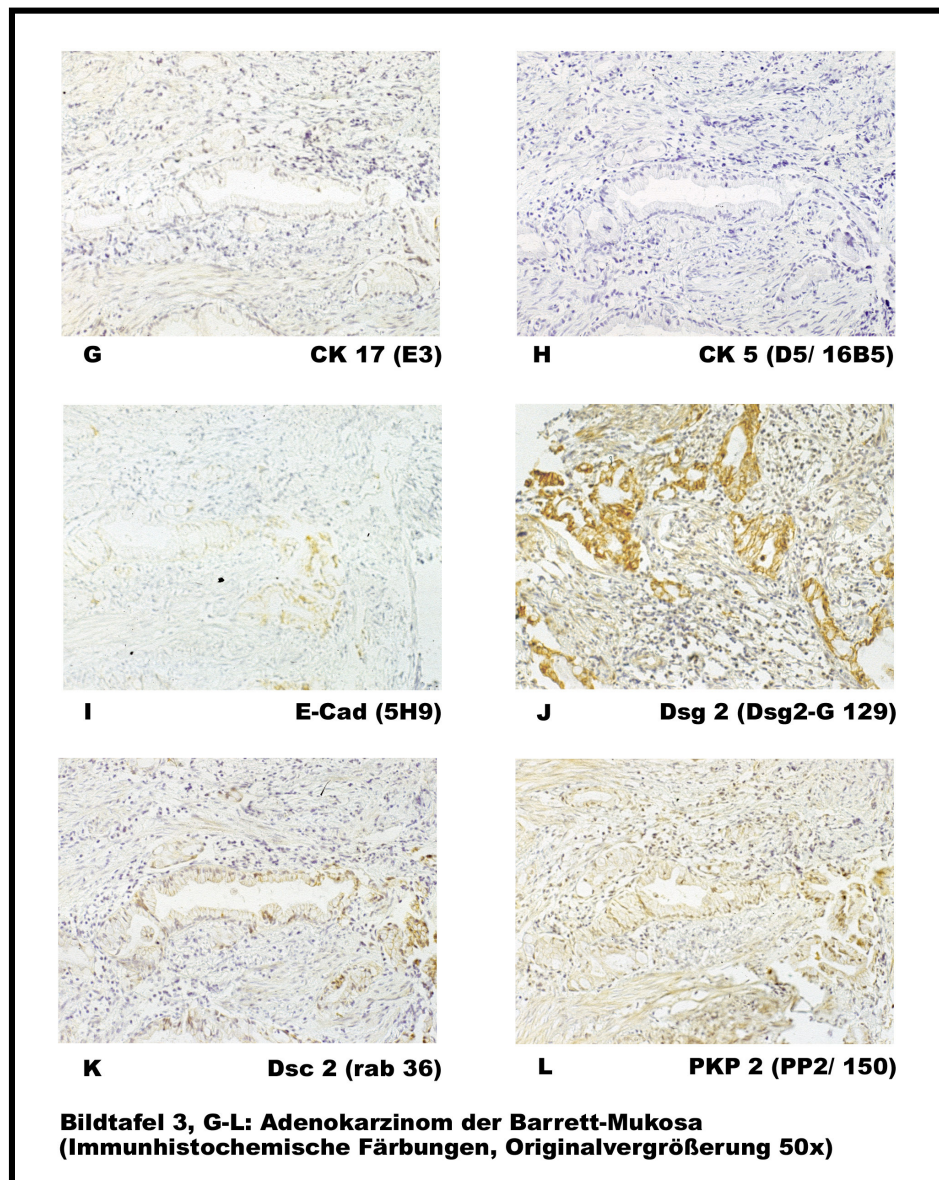
M 0 = 3, M 0,5 = 5, M 1 = 2, M 2 = 0

C 0 = 8, C 0,5 = 2

3.3.3. Bildtafeln zum Barrett-Karzinom

Bildtafel 3, A-F: Barrett-Karzinom



Bildtafel 3, G-L: Barrett-Karzinom

3.4. Plattenepithel des adulten Ösophagus

Bei der Untersuchung des Barrettepithels ohne Dysplasie fanden sich 16 Präparate mit Plattenepithel. Neun davon wurden mit der Standardserie, sieben Fälle mit allen Antikörpern bearbeitet. Das Plattenepithel wurde ausgewertet mit der Unterscheidung von Basalzellen und Suprabasalzellen.

3.4.1. Cytokeratine im Plattenepithel des adulten Ösophagus

Sowohl basal, als auch suprabasal gefärbt war das Plattenepithel mit Cytokeratin 5, Cytokeratin 18 und Cytokeratin 19, mit einer Betonung der Basalzellen bei Cytokeratin 18 und Cytokeratin 19. Eine bevorzugte Färbung der Basalzellen fanden sich bei den Cytokeratinen 6, 8, 14 und 17. Dagegen zeigte sich eine suprabasale Betonung bei den Cytokeratinen 4 und 13. Bei dem Antikörperklonen OV-TL 12/30 und Ks 7.18 kam es zu unterschiedlichen Ergebnissen. Der Klon OV-TL färbte hauptsächlich suprabasal positiv, der Klon Ks 7.18 war komplett negativ, ebenso wie Cytokeratin 20.

3.4.2. Adhäsionsmoleküle im Plattenepithel des adulten Ösophagus

Stark positiv in den basalen und suprabasalen Zellschichten waren die Ergebnisse bei Desmoglein 3, Desmocollin 3 und dem Klon HECD-1 für E-Cadherin. Leicht positiv basal und suprabasal zeigte sich der Klon 5H9 für E-Cadherin. Eine negative Basalschicht mit einer leichten suprabasalen Färbung fand sich bei Desmoglein 1. Eine basale Betonung zeigte Desmoglein 2, eine suprabasale Desmocollin 2. Ein komplett negatives Ergebnis konnte bei Desmocollin 1 gefunden werden. Der Antikörper Plakophilin 2 ergab auf dem Plattenepithel eine schwache diffuse Markierung, die wahrscheinlich unspezifisch ist.

3.5. Schleimhautdrüsen des adulten Ösophagus

3.5.1. Cytokeratine 5 und 20 in ösophagealen Schleimhautdrüsen

Es wurden acht Fälle von acht verschiedenen Patienten normaler Ösophaguspräparate untersucht, die aus tumorfreien Resektionsrändern bei Magen-Karzinom-Resektaten stammten. In diesen Fällen fanden sich unter einem intakten ösophagealen Plattenepithel unterschiedlich große Läppchen muköser Drüsen, die nur vereinzelt auch seröse Anteile aufwiesen, des Weiteren Gangstrukturen mit einer Auskleidung durch ein zwei- oder mehrreihiges Epithel.

Cytokeratin 20

In sämtlichen Fällen zeigten die ösophagealen Drüsen eine komplett negative Reaktion. In zwei Fällen waren als interne Positivkontrolle die neuroendokrinen Merkelzellen in der Basalschicht des ösophagealen Plattenepithels durch ihre Cytokeratin 20-Reaktion kräftig markiert.

Cytokeratin 7

Alle Fälle zeigten eine kräftig positive Reaktion für Cytokeratin 7.

Cytokeratin 5

In allen Fällen waren durch den Cytokeratin 5-Antikörper Myoepithelien der mukösen Azini, sofern vorhanden auch Myoepithelien der serösen Azini klar positiv markiert. In den Ausführungsgängen fand sich eine Markierung der Basalzellen, während luminale Zellen nur vereinzelt positiv waren.

3.5.2. Cytokeratine in gastralen Drüsen des ösophago-kardialen Übergangs

In zwei Fällen waren im Bereich des ösophago-kardialen Übergangs von ösophagealem Plattenepithel gedeckte Kardiadrüsen nachweisbar, die aus mukösen Zellen aufgebaut waren. Teilweise fanden sich auch spezifische Drüsen mit Hauptzellen und Belegzellen. Diese Drüsen sind somit im Bereich der Verzahnung des Plattenepithel-Kardia-Übergangs ausgebildet.

Cytokeratin 20

Die gastralen Drüsen zeigten für Cytokeratin 20 eine homogen oder heterogen positive Reaktion im oberflächlichen Bereich. Tiefe Drüsenanteile waren negativ für Cytokeratin 20.

Cytokeratin 5

Die beiden Fälle der gastralen Drüsen waren komplett negativ für Cytokeratin 5. Das bedeckende Plattenepithel diente als Positivkontrolle.

3.6. Fötaler Ösophagus

Es wurden fünf Ösophagi von Föten der 10. – 12. Entwicklungswoche untersucht. Da es sich hierbei primär um ein mehrreihiges Flimmerepithel handelt, welches in eine unreife Plattenepithelvorstufe übergeht, musste eine andere Art der Zellschichtenunterteilung vorgenommen werden:

1. Die sich der Basalmembran auflagernde einreihige Zellschicht wurde als Basalzellschicht (B) definiert. Die Zellen sind kubisch mit geringem cytoplasmatischen Anteil und bilden eine Zellreihe mit nur geringen strukturellen Abweichungen.
2. Daran anschließend finden sich mehrere Schichten von Intermediärzellen (I). Sie sind unterschiedlich in Größe und Form und ergeben somit ein heterogenes Bild.
3. Als superfizielle Zelllage findet sich noch eine Schicht luminaler, zilientragender Zellen (L), die mit ihren basalen Ausläufern zum Teil die tieferen Schichten der Intermediärzellen erreichen.

In der PAS-Färbung fand sich bei weitgehend negativer Gesamtreaktion eine schwache Membran-Reaktion mancher luminaler Zellen. Becherzellen waren nicht vorhanden.

3.6.1. Cytokeratine im fötalen Ösophagus

Cytokeratin 20

Es konnte in allen Fällen kein Cytokeratin 20 gefunden werden.

Cytokeratin 7, 4, 18

Bei starker Färbeintensität der Cytokeratine 7 (OV-TL 12/30, Ks 7.18) und 18 waren die luminalen und mehr heterogen die intermediären Zellen am stärksten gefärbt. Bezüglich Cytokeratin 4 waren die Ergebnisse bei mäßiger Färbeintensität uneinheitlich. Die Basalzellen waren bei allen diesen Antikörpern komplett negativ.

Cytokeratin 8, 19

Bei den Cytokeratinen 8 und 19 wurde in allen Schichten eine (fast) komplette Färbung gefunden. Die Färbeintensität bei Cytokeratin 19 war insgesamt sehr stark, bei Cytokeratin 8 konnte eine Zunahme der Färbeintensität in Richtung Lumen beobachtet werden.

Cytokeratin 5

Bei dem Cytokeratin 5 war ein gegenläufiges Muster wie bei den Cytokeratinen 7, 4 und 18 zu erkennen. Bei mäßiger Färbeintensität dominierten die Basalzellen, es kam zu einer Abnahme der positiv gefärbten Zellen in Richtung Lumen.

Cytokeratin 13

Bei Cytokeratin 13 waren die Basalzellen stets negativ. Die Intermediärzellen und Superfizialzellen waren mit beiden Antikörpern (2D7 und Ks 13.1) positiv. In drei Fällen allerdings war der Antikörper 2D7 negativ.

Cytokeratin 6

Die mit dem Antikörper KA 12 behandelten Schnitte zeigten eine ausgedehnte Anfärbung in den drei Zellschichten. In einem Fall allerdings war die Basalschicht negativ.

Cytokeratin 17

Ein variables Ergebnis fand sich bei dem Antikörper E3 für Cytokeratin 17. Es fanden sich komplett negative Fälle ebenso wie in der Luminalschicht positiv gefärbte Fälle.

Cytokeratin 14

Wie bei Cytokeratin 20 konnte auch hier keine Färbung erkannt werden. Alle Fälle waren komplett negativ.

3.6.2. Adhäsionsmoleküle im fötalen Ösophagus

E-Cadherin

Mit den Antikörpern 5H9 und HECD-1 war meist eine Zunahme der E-Cadherin-positiven Zellen zur luminalen Zellschicht hin verbunden. Nur bei einem Fall, der mit HECD-1 gefärbt wurde, reagierten alle Zellschichten gleichmäßig.

Desmogleine und Desmocolline

Bei den Desmogleinen und den Desmocollinen wurden die Zellen der Basalzellschicht als positiv gewertet, wenn sie an der apikalen Zellmembran an der Grenze zu den Intermediärzellen eine Färbung aufweisen. Es konnte nirgends ein Nachweis von Desmogleinen oder Desmocollinen an den lateralen bzw. basalen Membranen der Basalzellen erbracht werden.

Desmoglein 2, Desmocollin 2

Für Desmoglein 2 fand sich in allen Zellen eine einheitlich positive Reaktion. Beim Desmocollin 2 waren ebenfalls alle Schichten positiv, wobei die Intermediärschicht betont war.

Desmoglein 1, Desmocollin 1

Es konnte kein Nachweis einer Reaktion des Gewebes mit den Antikörpern gegen Desmoglein 1 oder Desmocollin 1 erbracht werden.

Desmoglein 3, Desmocollin 3

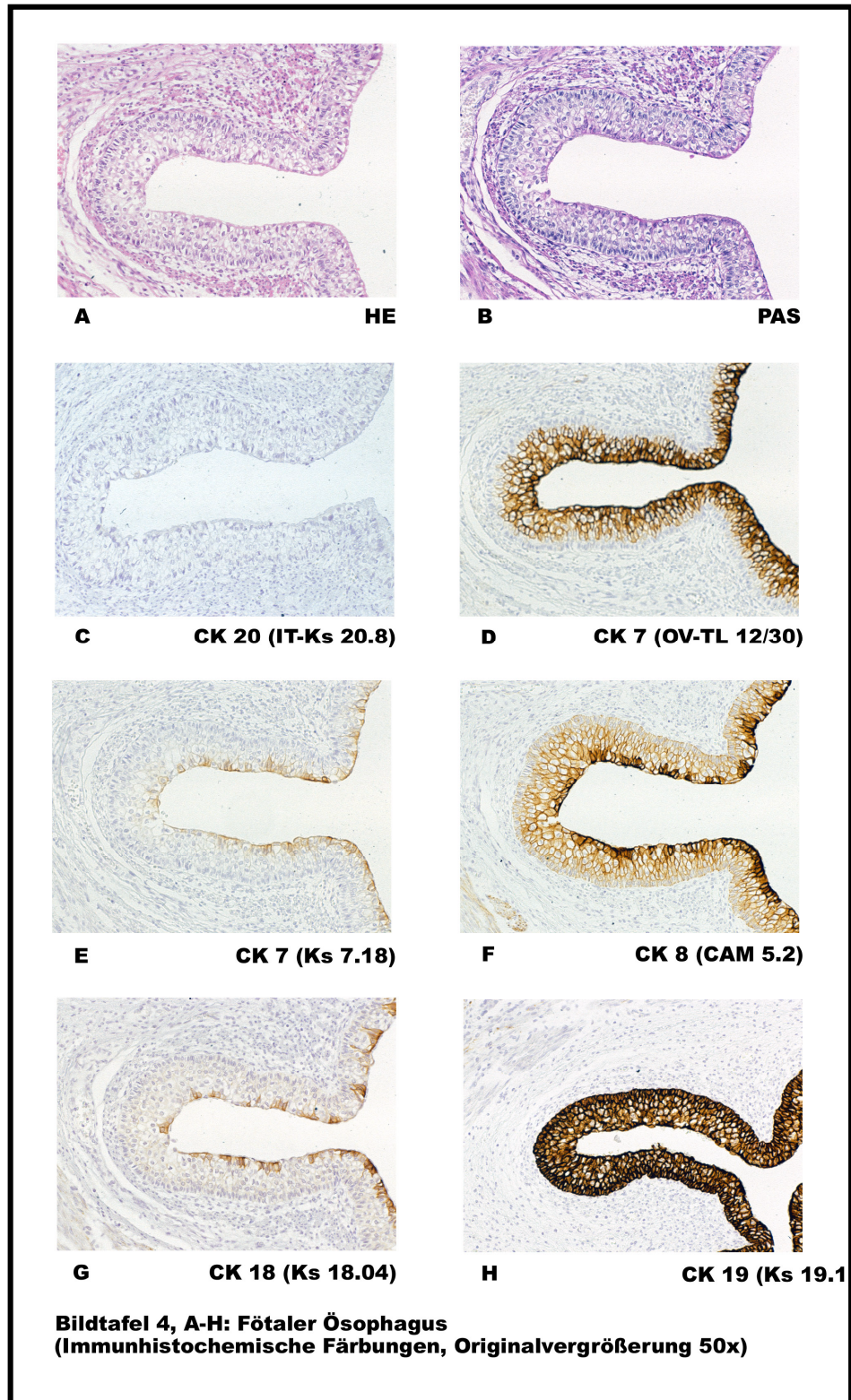
Bei beiden Antikörpern kam es zu einer vergleichsweise schwachen, jedoch eindeutig positiven, in der Basal- und der Intermediärschicht deutlich betonten Reaktion. In den luminalen Zellen waren Desmoglein 3 und Desmocollin 3 nur sporadisch exprimiert.

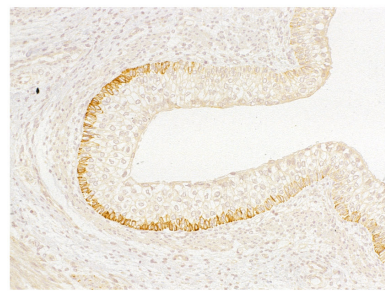
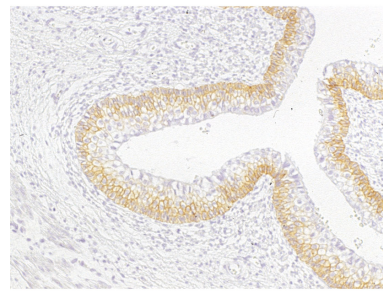
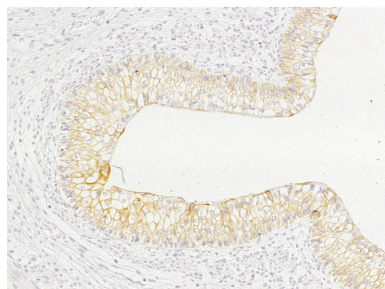
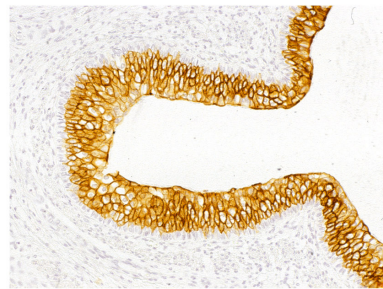
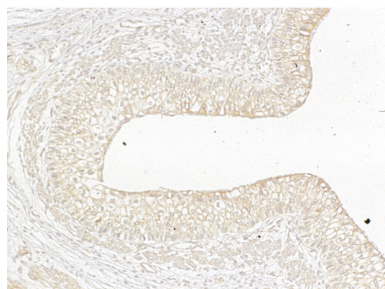
Plakophilin 2

Für Plakophilin 2 ergab sich in den fötalen Geweben eine derart starke Hintergrundsreaktion, dass eine eindeutige Auswertung nicht möglich war.

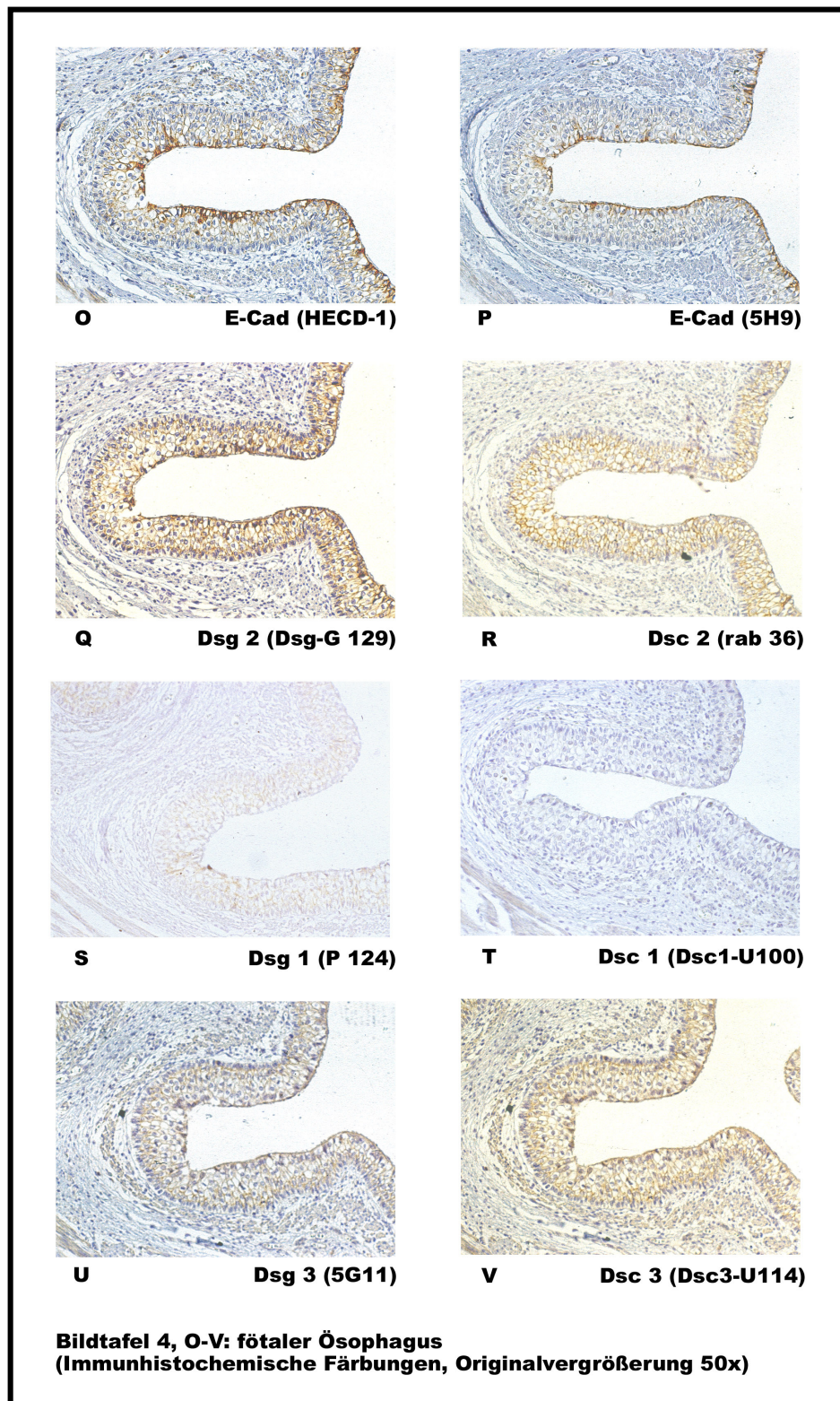
3.6.3. Bildtafeln zum fötalen Ösophagus

Bildtafel 4, A-H: Fötaler Ösophagus



Bildtafel 4, I-M: Fötaler Ösophagus**I CK 17 (E3)****J CK 5 (D5/ 16B4)****K CK 6 (KA12)****L CK 13 (2D7)****M CK 14 (LL001)**

Bildtafel 4, I-M: Fötaler Ösophagus
(Immunhistochemische Färbungen, Originalvergrößerung 50x)

Bildtafel 4, O-V: Fötaler Ösophagus

3.7. Foveoläres Epithel der Magenschleimhaut

3.7.1. Cytokeratine im foveolären Epithel der Magenschleimhaut

Es wurden insgesamt 10 Fälle von sieben verschiedenen Patienten untersucht. Davon wurden sechs Fälle von fünf Patienten mit der kleinen Antikörperserie gefärbt, die restlichen mit allen Antikörpern (siehe Antikörperliste). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden das oberflächliche foveoläre Epithel und die Drüsenhalsregion (Übergang zu den Drüsen), nicht aber die Magenschleimhautdrüsen selbst bewertet.

Cytokeratin 20

Cytokeratin 20 weist hier eine deutliche Diversität im Färbeverhalten zwischen Oberflächen- und Drüsenhalszone auf. Das Muster, welches die Oberflächenzone betont und in Richtung Drüsenhalszone hin stark abnimmt, entspricht dem des Barrettepithels.

Tabelle 3.22: Magenschleimhaut; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Drüsenhalszone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 20 (IT-Ks 20.8)						
1. Quartile		20		65		8
Median	2	25	2	90	2	15
4. Quartile		50		99		30

Cytokeratin 7

Auch für Cytokeratin 7 fand sich eine eindeutige positive Reaktion des foveolären Magenepithels. Allerdings konnte ein deutlicher Unterschied der beiden Klone mit stärker positiven Ergebnissen auf Seiten des OV-TL 12/30 festgestellt werden. Er überragt in den Ergebnissen sowohl in der Färbeintensität als auch im Prozentsatz der gefärbten Zellen den Klon Ks 7.18. Eine leichte Oberflächenbetonung war ebenfalls erkennbar.

Tabelle 3.23: Magenschleimhaut; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Drüsenhalszone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 7 (OV-TL 12/30)						
1. Quartile		43		75		10
Median	2	85	2	100	2	50
4. Quartile		100		100		100
CK 7 (Ks. 7.18)						
1. Quartile		0		0		0
Median	1	11	0,5	15	1	6
4. Quartile		90		100		90

Cytokeratin 8, 18, 19

Im Bereich des foveolären Magenepithels waren die Cytokeratine 8, 18 und 19 komplett positiv, wobei die mit Cytokeratin 18 gefärbten Zellen die farbintensivsten Reaktionen aufwiesen.

Tabelle 3.24: Magenschleimhaut;

Cytokeratin 8: CAM 5.2; Cytokeratin 18: Ks 18.04; Cytokeratin 19: Ks 19.1

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Drüsenhalszone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 8 (CAM 5.2)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100
CK 18 (Ks 18.04)						
1. Quartile		100		100		100
Median	2,5	100	2,5	100	2,5	100
4. Quartile		100		100		100
CK 19 (Ks 19.1)						
1. Quartile		98		100		95
Median	2	100	2	100	2	100
4. Quartile		100		100		100

Cytokeratin 17

Das Cytokeratin 17 zeigte in der foveolären Magenschleimhaut eine positive Reaktion. Die Oberflächenzone ist deutlich betont gegenüber der Drüsenhalszone.

Tabelle 3.25: Magenschleimhaut; Cytokeratin 17: E3

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Drüsenhalszone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 17 (E3)						
1. Quartile		10		40		2
Median	2	30	2	90	2	8
4. Quartile		50		100		25

Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14

Alle Färbungen mit den Antikörpern Cytokeratin 4, 5, 6, 13 und 14 waren komplett negativ.

3.7.2. Adhäsionsmoleküle im foveolären Epithel der Magenschleimhaut

E-Cadherin

Beide Klone des E-Cadherins zeigten eine fast vollständige Anfärbung der lateralen Plasma-Membranen. Das Cytoplasma zeigte eine schwache diffuse Anfärbung.

Tabelle 3.26: Magenschleimhaut; E-Cadherin: HECD-1, 5H9

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Drüsenhalszone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
E-Cad (HECD-1)						
1. Quartile		90		95		85
Median	1	100	1	100	1	100
4. Quartile		100		100		100
E-Cad (5H9)						
1. Quartile		80		100		70
Median	1	100	1	100	1	100
4. Quartile		100		100		100

Desmoglein 2, Desmocollin 2

Desmoglein 2 und Desmocollin 2 waren auch im foveolärem Epithel deutlich vertreten. Die Desmoglein-2-Reaktionen war gleichmäßig in Form feiner Pünktchen entlang der lateralen Zellgrenzen ohne apikale Betonung ausgebildet. Das Desmocollin 2 ist im Bereich der Zellmembran Drüsenhalszone reduziert.

Tabelle 3.27: Magenschleimhaut;

Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Drüsenhalszone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
DSG 2 (Dsg2-G 129)						
1. Quartile		98		100		95
Median	1	100	1	100	1	100
4. Quartile		100		100		100
DSC 2 (rab 36)						
1. Quartile		20		55		5
Median	1	80	1	100	0,8	60
4. Quartile		95		100		90

Desmoglein 1, 3, Desmocollin 1, 3

Desmoglein 1 und 3 und Desmocollin 1 und 3 waren komplett negativ.

Plakophilin 2

Für Plakophilin 2 ergab sich im foveolärem Epithel des Magens eine derart starke Hintergrundsreaktion, dass eine eindeutige Auswertung nicht möglich war.

3.8. Intestinale Metaplasie der Kardiaschleimhaut

Bei den Präparaten der intestinalen Metaplasie der Kardia handelte es sich um Biopsien von vier verschiedenen Patienten aus dem Institut für Pathologie, Klinikum der Philipps-Universität, Marburg. Jeder Fall wurde mit allen Antikörpern (siehe Antikörperliste) gefärbt.

3.8.1. Cytokeratine in der intestinalen Metaplasie der Kardiaschleimhaut

Cytokeratin 20

Das Cytokeratin 20 zeigte in der intestinalen Metaplasie eine stark positive Reaktion, dabei aber eine einheitlichere Färbung als im Barrett-Ösophagus. Der Unterschied zwischen Oberflächen- und Kryptenzone war hier nicht eindeutig, es scheint sich um eine gleichmäßige Verteilung dieses Cytokeratins innerhalb der intestinalen Metaplasie mit starker Expression auch in der Kryptenzone zu handeln.

Tabelle 3.28: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 20 (IT-Ks. 20.8)						
Median	2	85	2	90	2	75

Cytokeratin 7

Für Cytokeratin 7 zeigte die intestinale Metaplasie eine im Vergleich zur Barretttschleimhaut schwächere Expression, was insbesondere am Klon Ks 7.18 deutlich wird. Bei den mit OV-TL 12/30 gefärbten Fällen der intestinalen Metaplasie kam es zu einer vermehrten und stärkeren Anfärbung der Zellen als mit Ks 7.18.

Tabelle 3.29: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 7 (OV-TL 12/30)						
Median	2	75	2	95	2	70
CK 7 (Ks 7.18)						
Median	1	6	1	6	1	2

Cytokeratine 8, 18, 19

Die Cytokeratine 8, 18 und 19 sind in allen vier Fällen der intestinalen Metaplasie einheitlich positiv. Die stärkste Färbeintensität ist bei Cytokeratin 18 zu finden.

Tabelle 3.30: Intestinale Metaplasie;

Cytokeratin 8: CAM 5.2; Cytokeratin 18: Ks 18.04; Cytokeratin 19: Ks 19.1

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 8 (CAM 5.2)						
Median	2	100	2	100	2	100
CK 18 (Ks 18.04)						
Median	2,5	100	2,5	100	2,5	100
CK 19 (Ks 19.1)						
Median	1,5	100	1,5	100	1	100

Cytokeratin 17

Das Cytokeratin 17 zeigt in der intestinalen Metaplasie eine positive Reaktion mit leichter Tendenz zur Betonung der Oberflächenzone.

Tabelle 3.31: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 17: E3

	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 17 (E3)						
Median	2	70	2	90	2	70

Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14

Komplett negativ reagierten in der intestinalen Metaplasie die Cytokeratine 4, 5, 6, 13 und 14. Alle Mediane beliefen sich auf 0.

3.8.2. Adhäsionsmoleküle in der intestinalen Metaplasie der Kardiaschleimhaut

E-Cadherin

Das mit den Antikörpern HECD-1 und 5H9 getestete E-Cadherin konnte insbesondere in den Bereichen der Membranen als einheitlich positiv gewertet werden. Das Reaktionsmuster war durchwegs linear entlang der lateralen Zellmembran ausgebildet.

Tabelle 3.32: Intestinale Metaplasie; E-Cadherin: HECD-1, 5H9

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
E-Cad (HECD-1)						
Median	1	100	1	100	1	100
E-Cad (5H9)						
Median	1	100	1	100	1	100

Desmoglein 2, Desmocollin 2

Das Desmoglein 2 zeigte eine zum Teil in Pünktchen aufgelöste Reaktion entlang der Zellgrenzen, die in oberflächlichen Abschnitten der intestinalen Metaplasie lateral, in den Kryptenabschnitten dagegen betont oder fast ausschließlich apikal konzentriert war. Desmocollin 2 ergab ebenfalls eine positive Membranreaktion.

Tabelle 3.33: Intestinale Metaplasie;

Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Oberflächenzone		Kryptenzone	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
DSG 2 (Dsg2-G 129)						
Median	1	100	1	100	1	100
DSC 2 (rab 36)						
Median	1	100	1	100	1	100

Desmogleine 1 und 3, Desmocolline 1 und 3

Im Bereich der Zellmembran färbte nur ein Fall mit Desmoglein 3 die Kryptenzone zu 30%. Sonst konnte für die vier Cadherine keine Färbung gefunden werden.

Plakophilin 2

Plakophilin 2 färbte mit unterschiedlicher Intensität und unterschiedlicher Ausbreitung die Zellmembran der Fälle der intestinalen Metaplasie. Im Cytoplasma ergab sich teilweise eine Hintergrundfärbung.

Tabelle 3.34: Intestinale Metaplasie; Plakophilin 2: PP2/150

Membran- Färbung	Gesamtmukosa (Membr.)		Oberflächenzone (Membr.)		Kryptenzone (Membr.)	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
PKP 2 (PP2/150)						
Median	1	75	1	50	1	100

3.9. Dünndarmschleimhaut

Zur Untersuchung der Dünndarmabschnitte wurden je zwei Biopsate Duodenum und Ileum herangezogen. Es konnten hier keine Zeichen von pathologischen Veränderungen gefunden werden. Die Mediane beziehen sich immer auf alle vier Fälle, wobei keine Unterscheidung zwischen den einzelnen Darmabschnitten vorgenommen wurde. Falls eindeutige Abweichungen zwischen Duodenum und Jejunum auftreten, wird dazu im Text Stellung genommen.

3.9.1. Cytokeratine in der Dünndarmschleimhaut

Cytokeratin 20

Sowohl Duodenum als auch Ileum wiesen eine für Cytokeratin 20 eine homogene Cytoplasma-Färbung im Bereich der Zotten und eine Reduzierung im Bereich der Krypten auf. Die Intensität der Färbung war einheitlich hoch.

Tabelle 3.35: Dünndarmschleimhaut; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8

	Gesamtmukosa		Zotten		Krypten	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 20 (IT-Ks 20.8)						
Median	2	85	2	100	2	50

Cytokeratin 7

Bei den mit Ks 7.18 behandelten Fällen konnte keine Färbung gefunden werden. Die Ergebnisse belaufen sich für die Mediane auf 0. Dagegen wurden mit dem Klon OV-TL 12/30 hauptsächlich im Duodenum alternierend auftretende, positive Zellen gefunden. Aber auch im Ileum konnte in einzelnen Zellen eine Reaktion nachgewiesen werden.

Tabelle 3.36: Dünndarmschleimhaut; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30

	Gesamtmukosa		Zotten		Krypten	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 7 (OV-TL 12/30)						
Median	2	2	2	2	2	2

Cytokeratine 8, 18, 19

Die für Zylinderepithelien typische Cytokeratine 8, 18 und 19 waren wie zu erwarten in allen Fällen komplett positiv. Es waren alle Epithelzellen gefärbt. Alle Mediane beliefen sich in der Stärke auf 2 und in der Prozentzahl auf 100.

Cytokeratin 17

Auch im Dünndarm konnte das Oberflächen-betonende Muster von Cytokeratin 17 gefunden werden. Zwischen Duodenum und Ileum waren keine bedeutenden Unterschiede zu verzeichnen.

Tabelle 3.37: Dünndarmschleimhaut; Cytokeratin 17: E3

	Gesamtmukosa		Zotten		Krypten	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
CK 17 (E3)						
Median	2	70	2	100	2	10

Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14

Die Cytokeratine 4, 5, 6, 13 und 14 waren in allen Fällen des Duodenums und Ileums eindeutig negativ. Alle Mittelwerte und Mediane waren gleich 0.

3.9.2. Adhäsionsmoleküle in der Dünndarmschleimhaut

E-Cadherin

Für E-Cadherin ergab sich eine relativ einheitliche laterale Membranreaktion sowohl im Bereich der Zotten als auch im Bereich der Krypten. Klon HECD-1 reagierte stärker und ausgedehnter als Klon 5H9.

Tabelle 3.38: Dünndarmschleimhaut; E-Cadherin: HECD-1, 5H9

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Zotten		Krypten	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
E-Cad (HECD-1)						
Median	1	80	1	95	1	60
E-Cad (5H9)						
Median	1	60	1	70	1	30

Desmoglein 2, Desmocollin 2

Das Desmoglein 2 war sowohl im Duodenum als auch im Ileum einheitlich positiv. Im Bereich der Zotten fand sich eine ziemlich gleichmäßige laterale Membranreaktion, während in den Krypten eine apikale Betonung erkennbar wurde. Desmocollin 2 wies eine leichte Abnahme im Bereich der Kryptenmembranen auf, war sonst jedoch ebenso wie das Desmoglein 2 nachweisbar.

Tabelle 3.39: Dünndarmschleimhaut;

Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Zotten		Krypten	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
DSG 2 (Dsg2-G 129)						
Median	1	100	1	100	1	100
DSC 2 (rab 36)						
Median	1	90	1	100	1	75

Desmoglein 1 und 3, Desmocollin 1 und 3

Die Desmogleine 1 und 3 und die Desmocollin 1 und 3 konnten in den Membran-Bereichen in keinem Kompartiment nachgewiesen werden. Im Cytoplasma fand sich in einigen Fällen eine schwache diffuse, unspezifische Hintergrundsreaktion.

Plakophilin 2

Beim Plakophilin 2 war eine apikal konzentrierte punktförmige Desmosomenreaktion im Zotten- und im Kryptenbereich zu bemerken

Tabelle 3.40: Dünndarmschleimhaut; Plakophilin 2: PP2/150

Membran-Färbung	Gesamtmukosa		Zotten		Krypten	
	Stärke	%	Stärke	%	Stärke	%
PKP 2 (PP2/150)						
Median	1	50	0,5	30	1	85

3.10. Cytokeratin 5-, Cytokeratin 6-, Cytokeratin 17-Screening

3.10.1. Cytokeratine und Adhäsionsmoleküle des Screenings

Bei der Untersuchung des Barrettepithels ohne Dysplasie wurden zwei Stellen innerhalb eines Präparates gefunden, die in ihren Färbe-Eigenschaften nicht dem Barrettepithel entsprachen, und auch morphologisch nicht eindeutig zuzuordnen waren. Es handelte sich um mehrschichtiges Epithel von etwa vier bis sechs Zellreihen, von denen die oberste, dem Lumen zugewendete, polar und schleimbildend war (L), dazwischen fanden sich mehrere Intermediärreihen (I) und abschließend eine basale Zellreihe (B). Es zeigten sich in diesen Herden folgende unterschiedliche Färbemuster:

Tabelle 3.41: Cytokeratine des Spezial-Falles

	CK 20	OV-TL	Ks 7.18	CK 8	CK 18	CK 19
L	+	+	+/-	+	+	+
I	-	+	+/-	-	-	+
B	-	+	+/-	-	+	+

	CK 17	CK 5	CK 6	CK 4	Ks 13.1	2D7	CK 14
L	-	-	+	-	+	-	-
I	-	+	+	-	+	+	-
B	+	+	+	-	+	-	-

Tabelle 3.42: Adhäsionsmoleküle des Spezial-Falles

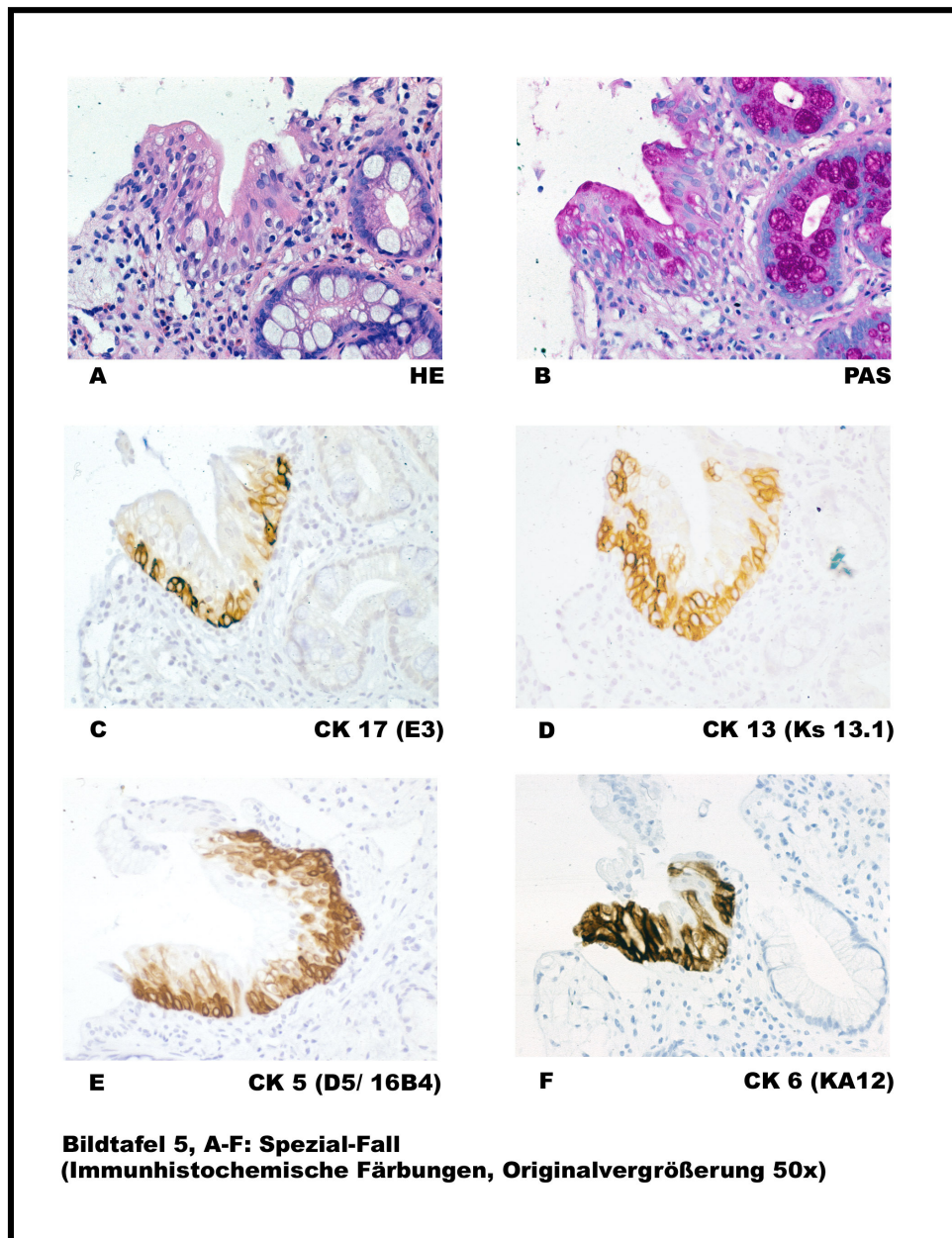
	HECD-1	5H9	Dsg 2	Dsc 2
L	+	+	+	+
I	+	+	+	+
B	+	+	-	-

	Dsg 1	Dsc 1	Dsg 3	Dsc 3	PKP 2
L	-	-	-	-	+
I	-	-	-	+	+
B	-	-	+	+	+

Das Markerprofil in den Herden dieses speziellen Falles ließ die Möglichkeit vermuten, dass es sich hier um das Phänomen einer sekundären Umwandlung des Barrettepithels in Plattenepithel handeln könnte, in Analogie zur Plattenepithel-Metaplasie der Cervix uteri. Eine allgemeine Relevanz dieses Befundes könnte aber nur dann angenommen werden, wenn er sich wiederholt beobachten ließe. Daher wurde eine große Fallzahl von Barrett-Biopsien aus Bayreuth zuerst mit dem Antikörper Cytokeratin 5 und Cytokeratin 6 (als Cocktail) gefärbt. Die Kombination dieser beiden Antikörper wurde aufgrund der in der Summe kompletten Färbung dieser mehrschichtigen Herde bei mit gleichzeitiger Nicht-Anfärbung des Barrettepithels gewählt. Durch diese Screening-Untersuchung sollten weitere Fälle mit derartigen Herden rasch und sicher aufgefunden werden können. Die Fälle mit einem positiven Ergebnis der Antikörper Cytokeratin 5 oder Cytokeratin 6 wurden anschließend für Cytokeratin 17 gefärbt. Insgesamt wurden 250 Fälle bearbeitet. Davon waren 32 fokal positiv für eines oder mehrere der Cytokeratine 5, 6 und 17. Hier waren jedoch die gefärbten Zellen morphologisch eindeutig dem normalen Barrettepithel zuzuordnen. Es konnte kein vergleichbares Färbemuster mit dem oben beschriebenen Fall entsprechender Morphologie, das heißt mit Vorliegen eines mehrschichtigen Epithels und luminal aufsitzender Zylinderepithellage gefunden werden. Der Mechanismus einer sekundären Plattenepithel-Metaplasie im Barrettepithel lässt sich somit nicht beweisen.

3.10.2. Bildtafel zur Screening-Untersuchung

Bildtafel 5, A-F: Spezial-Fall



3.11. Synopsis der Ergebnisse

Abschließend soll in der Tabelle 3.43 eine synoptische Gesamtübersicht über die erzielten Ergebnisse gezeigt werden. Bei den Plattenepithelergebnissen steht die erste Wertung für die basalen Zellschichten, die zweite für die Suprabasalzellschichten. Ebenso wurde beim fötalen Ösophagusepithel und dem Spezialfall verfahren, wobei von links nach rechts basale, intermediäre und luminale Zellschichten aufgeführt sind. Bei allen anderen Werten sind die Ergebnisse der Gesamtmukosa beschrieben. Das “ + “ steht für eindeutig positive Ergebnisse, das “ - “ für eindeutig negative Ergebnisse. In Klammern gesetzte Zeichen stehen für uneinheitliche oder nicht eindeutige Ergebnisse mit der entsprechenden Tendenz zum positiven oder zum negativen Ergebnis.

Tabelle 3.43: Komplettübersicht der Ergebnisse

	BE	LGD	CA	IM	MA	DD	PE	FÖ	SP
CK 20 (IT-Ks 20.8)	+	(+)	(-)	+	+	+	-/-	-/-/-	-/-/+
CK 7 (OV-TL 12/30)	+	+	+	+	+	-	-/+	-/+/+	+/+/+
CK 7 (Ks 7.18)	+	+	+	-	+	-	-/-	-/+/+	x
CK 4 (6 B 10)	-	-	n.u.	-	-	-	-/+	-/+/+	-/-/-
CK 13 (Ks 13.1)	-	-	n.u.	-	-	-	-/+	-/+/+	+/+/+
CK 13 (2 D 7)	-	-	n.u.	-	-	-	-/+	-/+/+	-/+/-
CK 14 (LL001)	-	-	n.u.	-	-	-	+/-	-/-/-	-/-/-
CK 5 (D5/16B4)	-	-	-	-	-	-	+/+	+/+/-	+/+/-
CK 8 (CAM 5.2)	+	+	n.u.	+	+	+	+/-	+/+/+	-/-/+
CK 18 (Ks 18.04)	+	+	+	+	+	+	+/+	-/+/+	+/+/-
CK 19 (Ks 19.1)	+	+	n.u.	+	+	+	+/+	+/+/+	+/+/+
CK 17 (E 3)	-	(+)	+	+	+	+	+/-	x	-/-/+
CK 6 (KA 12)	-	-	n.u.	-	-	-	+/-	+/+/+	+/+/+
E-Cad (HECD-1)	+	+	n.u.	+	+	+	+/+	(-)/+/+	+/+/+
E-Cad (5H9)	+	+	+	+	+	+	(+)/(+)	(-)/+/+	+/+/+
Dsg 2 (G 129)	+	+	+	+	+	+	+/(+)	+/+/+	-/+/+
Dsc 2 (rab 36)	+	+	+	+	+	+	(+)/+	+/+/+	-/+/+
Dsg 3 (5G11)	-	-	n.u.	+	-	-	+/+	+/+/-	+/+/-
Dsc 3 (Dsc3-U114)	-	-	n.u.	+	-	-	+/+	+/+/-	+/+/-
Dsg 1 (P 124)	-	-	n.u.	-	-	-	-/(+)	-/-/-	-/-/-
Dsc 1(Dsc1-U100)	-	-	n.u.	-	-	-	-/-	-/-/-	-/-/-
PP 2 (PP2/150)	+	+	+	+	xx	+	xx	xx	+/+/+

BE = Barrettepithel

LGD = low-grade Dysplasie

CA = Barrettenadenokarzinom

IM = intestinale Metaplasie

MA = foveoläres Magenepithel

DD = Dünndarm

PE = Plattenepithel

FÖ = fötaler Ösophagus

SP = Spezialfall

x = unterschiedliche Färbeergebnisse ohne erkennbare Tendenz zu positiven oder negativen Ergebnissen

xx = keine Auswertung aufgrund zu starker Hintergrundreaktionen

n.u. = nicht untersucht

4. Diskussion

Die stetig wachsende Inzidenz und Prävalenz des Barrett-Ösophagus und somit auch seiner dysplastischen Progression bis hin zum Barrett-Adenokarzinom geben Anlass für weitreichende Forschung und Studien auf diesem Gebiet. Erstaunlicherweise ist der Ursprung dieser Epithelveränderung, der sog. Barrett-Metaplasie, noch nicht eindeutig geklärt. Diese Studie hat zum Ziel, eine Übersicht über die Expressionsmuster von Cytokeratinen und epithelialen Adhäsionsmolekülen nicht nur für das Barrettepithel und seine prämaligen und malignen Derivate zu zeigen, sondern auch für andere morphologisch ähnliche oder histogenetisch relevante Epithelien, wie die der intestinalen Metaplasie, des fötalen Ösophagus, der Ösophagusdrüsen etc. Bestimmte Cytokeratinmuster sind richtungsweisend oder z.T. auch spezifisch für bestimmte Gewebetypen. So können Tumoren oder auch Metastasen teilweise eindeutig ihrem Ursprungsgewebe anhand ihrer Cytokeratinmuster zugewiesen werden (Moll, 1992, 1993). Ebenso ist eine Veränderung bestimmter Adhäsionsmoleküle wie z.B. des E-Cadherins im Verlauf einer Dysplasie-Karzinom-Sequenz innerhalb bestimmter Epithelien zu beobachten (Bailey et al., 1998; Morris et al., 2001).

4.1. Cytokeratin-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit Epithelien von Magen, Dünndarm, intestinaler Metaplasie, fötalem Ösophagus und adultem Ösophagus)

4.1.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde

Zylinderepitheliale Cytokeratine 7, 20

Die Cytokeratine 7 und 20 werden hier aufgrund ihrer spezifischen Färbemuster gemeinsam betrachtet. Das von Ormsby et al. (1999) erstmals beschriebene, für die Barrettschleimhaut typische Muster (Cytokeratin 20 oberflächenbetont, Cytokeratin 7 in allen Epithelbereichen vorhanden) konnte hier bestätigt und bei allen Fällen nachgewiesen werden. Die homogene Cytokeratin 7-Reaktion ließ

sich allerdings nur mit dem Klon OV-TL 12/30 erzielen, während der Klon Ks 7.18 eine etwas reduzierte Färbung ergab. Ein ähnliches Cytokeratin 7/20-Muster zeigte das foveoläre Epithel des Magens, wobei hier ein deutlicherer Unterschied in den Ergebnissen der Cytokeratin 7-Klone zu sehen war. Der Klon OV-TL 12/30 färbte fast 100% der Zellen, mit dem Klon Ks 7.18 waren es nur 10%. In der Dünndarmschleimhaut konnte auch eine Cytokeratin 20-Oberflächenbetonung gefunden werden, das Cytokeratin 7 jedoch war mit dem Klon Ks 7.18 komplett negativ, der Klon OV-TL 12/30 färbte noch vereinzelte Zellen. In der intestinalen Metaplasie der Kardiaschleimhaut zeigte sich, verglichen mit dem Barrettepithel, eine ausgedehntere homogenere Reaktion für Cytokeratin 20 (mit nur geringer Reduktion in der Kryptenzone), dafür eine schwächere Expression von Cytokeratin 7, auch hier insbesondere bezüglich des Klons Ks 7.18, der nur wenige Zellen färbte. Im fötalen Ösophagus konnte kein Cytokeratin 20 nachgewiesen werden, Cytokeratin 7 war mit beiden Klonen sowohl in der Luminal- als auch der Intermediärschicht positiv. Auch die submukösen Drüsen des adulten Ösophagus waren positiv für Cytokeratin 7 und negativ für Cytokeratin 20.

Somit lassen sich die sechs genannten Gewebe in drei Gruppen einteilen. Sowohl der fötale Ösophagus als auch die adulten Ösophagusdrüsen sind durch ausschließliche und kräftige Expression von Cytokeratin 7 bei komplettem Fehlen von Cytokeratin 20 gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu zeigen die normale Dünndarmschleimhaut und die intestinale Metaplasie der Kardiaschleimhaut eine kräftige und nahezu homogene, allenfalls basal leicht reduzierte Expression von Cytokeratin 20 bei sehr spärlicher Expression von Cytokeratin 7. Dazwischen stehen das Magenfoveolenepithel und die Barrettmukosa mit deutlicher Expression von Cytokeratin 7, aber auch deutlicher, wenngleich in der Tiefe reduzierter Expression von Cytokeratin 20.

Problem der Cytokeratin 7-Klone

Die hier verwendeten Cytokeratin 7-Antikörper, Klon OV-TL 12/30 und Klon Ks 7.18, scheinen eine unterschiedliche Sensitivität aufzuweisen, da die erzielten Ergebnisse zwischen den Klonen z.T. deutlich variierten. In der Literatur gibt es

hierzu keine Angaben, da in keiner Studie beide Cytokeratin 7-Klone simultan verwendet worden sind. Welche Erklärungsmöglichkeiten gibt es?

Die jeweiligen Bindungsstellen auf dem Cytokeratin 7-Protein sind sicher unterschiedlich und können verschieden gute Zugänglichkeit für die Antikörper haben. Ebenso können die beiden Bindungsstellen auch in unterschiedlicher Dichte oder Anzahl vorhanden sein. Der Klon OV-TL 12/30 (Erstbeschreibung bei Ramaekers et al., 1990) ist in der aktuellen Literatur der am meisten verwendete Cytokeratin 7-Antikörper. Aufgrund der ausgedehnten Färbung kann angenommen werden, dass er die Anwesenheit des Cytokeratin 7-Proteins im Gewebe am besten reflektiert. Anhand von Vergleichen mit anderen Antikörpern für Cytokeratin 7 (die aber den Klon Ks 7.18 nicht einschlossen) zeigten van Niekerk et al. (1991), dass der Klon OV-TL 12/30 besonders an Paraffin-eingebetteten Geweben die besten Ergebnisse aufweist. Allerdings sei darauf hingewiesen, dass dieser Antikörper auch bislang noch ungeklärte Phänomene zeigt, z.B. die Anfärbung bestimmter Blutgefäßendothelien (Damjanov et al., 1990), die mit keinem anderen Cytokeratinantikörper markiert werden, obgleich theoretisch ein komplementäres Partner-Cytokeratin des Typ I exprimiert sein müsste (Moll, 1993). Daher erscheinen noch unbekannte Kreuzreaktionen nicht ganz ausgeschlossen. Ein weiteres Beispiel für die eventuelle unspezifische Bindung des Cytokeratin 7-Antikörpers OV-TL 12/30 kann in dieser Studie anhand der Ergebnisse im adulten Plattenepithel aufgeführt werden. Das Plattenepithel des Ösophagus hat hier mit OV-TL 12/30 in bis zu 50 Prozent der suprabasalen Zellen reagiert, somit in Zellen, die in die terminale plattenepitheliale Differenzierung eingehen, während zylinderepitheliale Cytokeratine viel eher in der Basalschicht zu erwarten wären, wie das für Cytokeratin 19 und andere gilt (Moll, 1993). Somit weist der Klon OV-TL 12/30 die höchste Sensitivität auf, könnte aber in bestimmten Situationen unspezifische Kreuzreaktionen zeigen, während der Klon Ks 7.18 eine geringere Sensitivität aufweist, seine Spezifität ist aber ohne Zweifel (Bartek et al., 1991).

Zylinderepitheliale Cytokeratine 8, 18, 19

Die Cytokeratine 8, 18 und 19 waren im Barrett-, Magen-, intestinalen Metaplasie- und Dünndarmepithel zu 100% positiv. Beim fötalen Ösophagus war die luminal Zellreihe komplett, die Intermediärreihen größtenteils positiv. Somit liegt hier eine nahezu ubiquitäre Expression vor.

Cytokeratin 17

In allen hier beschriebenen Gewebearten mit Zylinderepithelien konnte Cytokeratin 17 mit einer Betonung der Oberflächennzone gefunden werden. Im Barrettepithel waren jedoch nur ca. 2/3 der Fälle positiv. Im adulten ösophagealen Plattenepithel fand sich eine vermehrte Anfärbung der basalen Zellschicht. Das fötale Ösophagusepithel zeigte unterschiedliche Ergebnisse, es fanden sich komplett negative, ebenso wie luminal positiv gefärbte Fälle.

Plattenepitheliale Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14

Diese plattenepithelialen Cytokeratine waren sowohl im Barrettepithel, als auch dem foveolärem Magenepithel, der intestinalen Metaplasie und der Dünndarmschleimhaut komplett negativ. Hingegen waren sämtliche dieser Cytokeratine im adulten Plattenepithel des Ösophagus nachweisbar, die meisten (mit Ausnahme von Cytokeratin 14) auch im fötalen Ösophagusepithel. In den adulten Ösophagusdrüsen fand sich Cytokeratin 5, während die anderen Cytokeratine dieser Gruppe fehlten (R. Moll, unveröffentlicht; hier nicht gezeigt).

4.1.2 Biologische Einordnung des Cytokeratinmusters des Barrettepithels

Anhand der differenzierungsspezifischen Cytokeratin-Expressions-Muster können in den einzelnen Gewebearten verschiedene epitheliale Zelltypen definiert werden (Moll, 1993). Die Einteilung des Barrettepithels anhand seines Cytokeratinmusters kann anhand unserer Befunde folgendermaßen durchgeführt werden: Die für Zylinderepithel typischen Cytokeratine 7, 8, 18, 19 und 20 sind alle vertreten, wo hingegen die für Plattenepithelien typischen Cytokeratine 5 und 17 nur vereinzelt, 4, 6, 13 und 14 nicht nachzuweisen sind. Somit exprimiert das Barrettepithel ein nahezu rein zylinderepitheliales

Cytokeratinmuster; ein plattenepithelialer oder Hybrid-Phänotyp kann nicht festgestellt werden.

Innerhalb der verschiedenen Formen und Typen des Zylinderepithels vermag das Expressionsmuster der beiden Cytokeratine 7 und 20 noch spezifischere Zuordnungen zu treffen. Im Fall des Barrettepithels sind diese Cytokeratine beide vertreten, wobei Cytokeratin 7 quantitativ gegenüber Cytokeratin 20 etwas dominiert (homogenes Muster für Cytokeratin 7 versus heterogenes Muster für Cytokeratin 20). Unter den normalen Zylinderepithelien wird das Cytokeratin 20 praktisch ausschließlich im Magenfoveolenepithel und im Dünn- und Dickdarmepithel exprimiert (Moll, 1993). Eine Koexpression von Cytokeratin 7 findet sich vorzugsweise im Magenfoveolenepithel, hingegen kaum im Darmepithel. Das Barrettepithel lässt sich also aufgrund seines Cytokeratin-Musters biologisch als „gastrointestinales“ Zylinderepithel einordnen. Dabei steht es dem Magenfoveolenepithel näher als dem Dünn- und Dickdarmepithel, wenngleich auch bezüglich des Magenfoveolenepithels die Übereinstimmung nicht vollständig ist. Das Barrettepithel unterscheidet sich auch deutlich von der (reifen) intestinalen Metaplasie, in der Cytokeratin 7 nur sehr gering exprimiert wird.

4.1.3. Korrelation mit der Literatur

Zwar gibt es in der Literatur eine Reihe von Studien zur Cytokeratin-Expression in der Barrettmukosa, doch haben alle bisherigen Arbeiten immer nur einzelne oder kleine Gruppen von Cytokeratinen untersucht. Die vorliegende Arbeit ist die bislang umfassendste Studie, in der an einem Material und mit einer Methodik insgesamt 11 verschiedene Cytokeratine am Barrettepithel analysiert worden sind. Die Korrelation mit der Literatur kann sich daher nur auf jeweils einzelne Cytokeratin-Gruppen beschränken, die im Folgenden separat besprochen werden. Hinsichtlich des fötalen Ösophagus liegen in der Literatur noch keine Angaben zur Cytokeratin-Expression vor.

Zylinderepitheliale Cytokeratine 7, 20

Cytokeratin 20 als Marker der intestinalen Differenzierung wird in der Oberflächen- und Kryptenzone des Dün- und Dickdarmepithels exprimiert (Moll et al., 1992). Im Magen ist die Cytokeratin 20-Reaktion auf die Oberflächenzone des foveolären Epithels beschränkt (Moll et al., 1992). Cytokeratin 7 als Marker der dukталen Differenzierung ist im Epithel des Gastrointestinaltraktes in früheren Studien nicht nachweisbar gewesen (Moll et al., 1992). In unseren mit dem Cytokeratin 7-Klon OV-TL 12/30 gefärbten Fällen konnte jedoch konstant im foveolären Epithel des Magen und vereinzelt in der Dünndarmschleimhaut eine positive Cytokeratin 7-Expression mit diesem Klon gefunden werden (zur Problematik der Cytokeratin 7-Klone siehe oben). Bei der Barrettschleimhaut reagierten beide Cytokeratin 7-Klone (OV-TL 12/30 und Ks 7.18) kräftig positiv.

In der Literatur sind zu Cytokeratin 7 und Cytokeratin 20 von Ormsby et al. (1999, 2000) Befunde erhoben worden, die einiges Aufsehen erregt haben und z.T. kontrovers diskutiert werden. Das von Ormsby et al. (1999) erstmals beschriebene Cytokeratin 7/Cytokeratin 20-Muster der Barrettmukosa besteht aus einer durchgängigen Cytokeratin 7-Färbung und einer oberflächenbetonten Cytokeratin 20-Färbung. Ormsby et al. (1999) haben dieses Muster insbesondere mit der intestinalen Metaplasie der Magenschleimhaut verglichen. Dabei wurden die inkomplette und die komplette intestinale Metaplasie separat auf die Cytokeratin 7/20-Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse der inkompletten intestinalen Metaplasie der Magenschleimhaut zeigen eine starke, aber ungleichmäßige Cytokeratin 20-Färbung der oberflächlichen und tiefen Drüsen und eine schwache und unregelmäßige Cytokeratin 7-Färbung mit variabler Beteiligung der oberflächlichen und tiefen Drüsen. Bei der kompletten intestinalen Metaplasie kann eine durchgängige starke Reaktion mit Cytokeratin 20 und eine komplett negative Reaktion mit Cytokeratin 7 beobachtet werden. Zusammen werden sie von Ormsby et al. (1999) als das gastrische Cytokeratin 7/20-Muster bezeichnet, welches durch eine Dominanz von Cytokeratin 20 gegenüber Cytokeratin 7 gekennzeichnet ist und in 100% der gastralen intestinalen Metaplasien gefunden wurde. Bei den hier untersuchten vier Fällen der intestinalen Metaplasie kommt es zu einer gleichmäßigen Verteilung von

Cytokeratin 20 im ganzen Gewebe. Die mit dem Klon OV-TL 12/30 gefärbten Präparate sind im Gegensatz zu den mit Ks 7.18 gefärbten positiv, wenngleich im Vergleich zum Barrettepithel schwächer. Es liegt somit ebenfalls eine Dominanz von Cytokeratin 20 gegenüber Cytokeratin 7 vor, also ein „gastrisches Cytokeratin 7/20-Muster“, welches sich vom Barrett-Muster unterscheidet. Es kann hier aufgrund der Färbemuster der intestinalen Metaplasie allerdings keine eindeutige Zuordnung zu einer kompletten oder inkompletten intestinalen Metaplasie gemacht werden. Ebenso wie Ormsby et al. (1999) kommen Shen et al. (2002) zum Ergebnis, dass die unterschiedlichen Cytokeratin 7/20-Muster der intestinalen Metaplasie und des Barrettepithels ein gutes Kriterium zur Unterscheidung der beiden Läsionen sind, da das typische Cytokeratin 7/20-Muster des Barrettepithels nicht oder nur extrem selten im intestinalen Metaplasiegewebe vorkommt. Diese Aussage ist mit unseren Färbeargebnissen durchaus vereinbar, wobei eine mögliche diagnostische Anwendung und deren klinische Wertigkeit allerdings nicht im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen. Zusammengefasst können wir das von den genannten Autoren – wie auch Glickman et al. (2002) und Shen et al. (2002) – beschriebene Barrett-spezifische und gegenüber der intestinalen Metaplasie unterschiedliche Cytokeratin 7/20-Muster eindeutig bestätigen.

Zylinderepitheliale Cytokeratine 8, 18, 19

Die Cytokeratine 8 und 18, die als Cytokeratin-Paar typischerweise in einschichtigen Epithelien vorkommen, konnten in allen hier untersuchten Gewebearten, Barrettepithel, foveoläres Magenepithel, intestinale Metaplasie, fötalem Ösophagus und Dünndarm nachgewiesen werden. Auch Cytokeratin 19, das in zahlreichen einschichtigen Epithelien (nicht aber in parenchymatösen Epithelzellen) exprimiert wird, entspricht diesem Färbeverhalten und ließ sich in den unterschiedlichen Epithelien als deutlich positiv erkennen. Es finden sich in der Literatur zwei Publikationen, die zum gleichen Ergebnis gekommen sind. Salo et al. (1996) konnten eine einheitliche Expression der Cytokeratine 8, 18 und 19 in allen Schichten des Barrettepithels nachweisen. Ebenso beschrieben Boch et al. (1997) die für die glanduläre Differenzierung typischen Cytokeratine 8 und 19 im Epithel des Barrett-Ösophagus und in der Magenschleimhaut. Das konstante Vorkommen der Cytokeratine 8, 18 und 19 im Barrettepithel ebenso

wie im Magenepithel passt gut zu der bekannten weiten Verbreitung dieser Cytokeratine in Zylinderepithelien, die von frühen Stufen der Embryogenese an zu beobachten ist; speziell die Cytokeratine 8 und 18 scheinen in der Embryogenese die ersten exprimierten Cytokeratine zu sein (Jackson et al., 1980, 1981).

Cytokeratin 17

Für dieses in verschiedenen Plattenepithelien, Basalzellen mehrreihiger Epithelien und bestimmten Zylinderepithelien exprimierte Cytokeratin fanden wir in der Barrettschleimhaut ein variables Expressionsmuster. In der Literatur ist lediglich der Antikörper 4F5 zu nennen, der bei Salo et al. (1996) eine konstant positive Reaktion der Barrettschleimhaut ergeben hat, der sich aber nicht nur gegen Cytokeratin 17, sondern simultan auch gegen die Cytokeratine 7 und 19 richtet. Eine positive Färbung mit diesem Antikörper erlaubt somit – bei bekannter Expression von Cytokeratin 7 und Cytokeratin 19 in der Barrettschleimhaut – keine Aussage zum Vorkommen von Cytokeratin 17. Somit wird in der vorliegenden Arbeit die Expression dieses Cytokeratins in der Barrettschleimhaut erstmals beschrieben.

Plattenepitheliale Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14

Diese Cytokeratine kommen vorwiegend in nichtverhornenden Plattenepithelien, wie dem des Ösophagus, vor (Moll, 1993). Sie sind nicht typisch für einschichtige Epithelien. Unsere Ergebnisse waren in den untersuchten Barrettschleimhaut-Proben komplett negativ. Es zeigten sich zwar vereinzelt leichte Färbungen in der mit Cytokeratin 5 und Cytokeratin 13 getesteten Barrettschleimhaut, die aber nicht sicher als spezifische Reaktion gewertet werden können. Bezüglich der Cytokeratine 5 und 6 liegen noch keine Literaturangaben für die Barrettschleimhaut vor; hinsichtlich der anderen Cytokeratine wird im folgenden die vorhandene Literatur diskutiert. Anders als in der vorliegenden Arbeit fanden Salo et al. (1996) eine spezifische, in den Oberflächen- und Kryptenzonen der Barrettschleimhaut vorhandene, jedoch variable Epithelreaktion bestimmter Antikörper gegen die Cytokeratine 13 und 14. Bei Salo et al., wurde mit Gefrierschnitten der Barrettschleimhaut gearbeitet, die Cytokeratine wurden mit der indirekten Immunfluoreszenzmikroskopie

nachgewiesen. Daher könnte man vermuten, dass die Quantität dieser Cytokeratine vergleichsweise gering ist und somit diese durch den in Paraffin eingebetteten Präparaten nicht mehr erfasst werden können. Es könnte daher ein Sensitivitäts-Unterschied der verwendeten Methoden die unterschiedlichen Ergebnisse begründen. Andererseits ist die von uns verwendete Methode der Mikrowellen-Behandlung als sehr sensitiv anzusehen und hierin durchaus vergleichbar mit der Gefrierschnitt-Technik. Bei in den Schnitten enthaltenen Kontrollstrukturen wie ösophagealen Plattenepithelien konnten diese Cytokeratine in unseren Färbungen auch sehr gut nachgewiesen werden. Gegen eine tatsächliche Expression der Cytokeratine 13 und 14 (Typ I-Cytokeratine) in der Barrettschleimhaut spricht der Befund, dass sich keine komplementären Typ II-Cytokeratine des Plattenepitheltyps (wie Cytokeratine 4, 5 und 6) nachweisen lassen. Weitere Argumente gegen eine Cytokeratin 13- und Cytokeratin 14-Expression sind die Tatsachen, dass beide von uns verwendeten Cytokeratin 13-Antikörper, die gegen unterschiedliche Epitope gerichtet sind, negativ waren und dass sowohl die beiden Cytokeratin 13-Antikörper als auch der Cytokeratin 14-Antikörper unserer Studie in der Literatur gut etabliert sind (Moll et al., 1988; Moll, 1993; Purkis et al., 1990). Schließlich ergibt sich aus einer sorgfältigen Lektüre der Arbeit Salo et al. (1996) der begründete Verdacht, dass der Cytokeratin 13-Klon 1A3 vermutlich nicht monospezifisch für Cytokeratin 13 ist, da auch die Basalschicht des ösophagealen Plattenepithels, die Cytokeratin 13 negativ ist (Moll, 1993), sich positiv färbte. Auch der Antikörper KA1 ist nicht zweifelsfrei als Cytokeratin 14-Antikörper etabliert (Moll, 1993). Insgesamt lässt sich aus den vorliegenden Daten folgern, dass die Cytokeratine 13 und 14 in der Barrettschleimhaut wahrscheinlich nicht exprimiert werden. Um eine definitive Aussage zu treffen, wären weiterführende Analysen mit anderen Methoden, z.B. biochemischer oder molekularbiologischer Natur, erforderlich.

Boch et al. (1997) gehen davon aus, dass der Ursprung des Barrettepithels in einer multipotenten Stammzelle des ösophagealen Plattenepithels liege. Aus dieser Stammzelle entstehe ein mehrschichtiges Epithel („multilayered epithelium“), das sowohl mit den Cytokeratinen 8 und 19, als auch fokal mit den Cytokeratinen 4 und 13 anfärbbar war, also zylinderepitheliale und

plattenepitheliale Eigenschaften besitze (Boch et al., 1997). Ein derartiges Epithel sei in fokalen Arealen inmitten der Barrettschleimhaut nachweisbar. Auch Glickman et al. beschrieben 2001 ein spezielles mehrschichtiges Epithel an Plattenepithel/Zylinderepithel-Übergängen und innerhalb der Barrettepithels, welches in den basalen „squamoiden“ Zellen für Cytokeratin 13 positiv reagierte. Auch wir konnten in einem Fall eine mehrreihige, Cytokeratin 13-exprimierende Stelle innerhalb einer Barrettschleimhaut finden (siehe Ergebnisse 3.9.), welche morphologisch dem mehrreihigen Epithel der beiden genannten Studien entsprechen könnte. Zur Übersicht hier eine Tabelle der Ergebnisse der mehrschichtigen Epithelien der unterschiedlichen Studien.

Tabelle 4.1: Vergleich von Cytokeratinen im Barrettepithel der vorliegenden Arbeit mit Boch et al., 1997 und Glickman et al., 2001

Cytokeratin	Vorliegende Arbeit*	Boch et al., 1997	Glickman et al., 2001
4	-	+	n.u.
7	+	n.u.	+ (L)
8	+ (L)	+	+ (L)
13	+	+	+ (B)
18	+ (B&L)	n.u.	+ (L)
19	+	+	+
20	+ (L)	n.u.	+ (L)

* Ein einziger Fall, bei dem darüber hinaus noch die Cytokeratine 5, 6, und 17 nachgewiesen wurden.

n.u. = nicht untersucht

L = Luminalschicht (oberflächliche Schicht), B = Basalschicht

Abgesehen von der bei uns negativen Cytokeratin 4-Färbung stimmen die Befunde weitgehend überein. Es könnte daher angenommen werden, dass es sich in den beiden genannten Studien wie auch in dem aufgeführten Fall der vorliegenden Studie jeweils um gleichartige Epithelläsionen handelt, nämlich um ein mehrschichtiges Epithel mit einem Hybridcharakter und Eigenschaften

sowohl des Zylinder- als auch des Plattenepithels. Allerdings sind die Häufigkeiten, mit denen diese Epithelläsion bei Barrett-Patienten vorkommt, in den genannten Arbeiten sehr unterschiedlich. Boch et al. (1997) fanden ein mehrschichtiges Epithel in drei von 17 Barrett-Proben, während in der vorliegenden Arbeit ein derartiges Epithel nur in einer von 250 untersuchten Proben nachweisbar war. Daher ist es nicht als gesichert anzusehen, dass es sich tatsächlich um identische Läsionen handelt.

Die entscheidende Frage ist, ob sich aus diesem fokal vorkommenden mehrschichtigen Hybridepithel ein Barrettepithel entwickelt oder entwickeln kann. Wenn diese mehrschichtigen Epithelareale in der Pathogenese der Barrettmetaplasie eine zentrale Rolle spielen würden, müsste man annehmen, dass solche Gewebsareale wesentlich häufiger aufzufinden sein sollten als hier beschrieben wurde. Eine alternative Interpretation wäre der genau umgekehrte Vorgang, nämlich eine metaplastische Umwandlung der Barrettschleimhaut in ein mehrschichtiges Plattenepithel im Sinne einer „Rück-Metaplasie“. Für diese Hypothese konnte allerdings auch an unserer ausgedehnten Screening-Serie von 250 Fällen kein Beweis erbracht werden. In der Biologie, insbesondere der Embryogenese, gibt es einzelne Beispiele, bei denen aus einem Plattenepithel bzw. aus plattenepithelialen Basalzellen drüsige Strukturen mit zylinderepithelialen Cytokeratinen entstehen. Dazu gehören die Entstehung von Schweißdrüsen aus der embryonalen Epidermis und die Entstehung von submukösen Schleimhautdrüsen aus der embryonalen Mund-Rachen-Ösophagus-Schleimhaut. Diese Drüsen besitzen jedoch keinen rein zylinderepithelialen Phänotyp, sondern weisen alle noch Äquivalente des mehrreihigen Epithels im Sinne von Basal- bzw. Myoepithelzellen mit einer Cytokeratin 5/14-Expression (Moll, 1993) auf, was im Fall der Barrettschleimhaut nicht vorliegt. Zudem kommt es in diesen embryonalen Situationen nicht zu einer Cytokeratin 20-Expression. Man müsste also bei einer Umwandlung des „mehrschichtigen Epithels“ in ein Barrettepithel einen kompletten Verlust der plattenepithelialen Cytokeratine postulieren, verbunden mit einem Neuauftreten des gastrointestinalen Cytokeratin 20. Für keine dieser Vorgänge sind uns Beispiele aus der normalen Biologie bekannt, so dass wir einen solchen Mechanismus für unwahrscheinlich halten.

Zusammenfassend haben wir mit einem breiten Spektrum gut definierter Antikörper gegen plattenepitheltypische Cytokeratine versucht, die in der Literatur postulierten plattenepithelialen Eigenschaften der Barrettmukosa zu überprüfen. Die Ergebnisse sind für die Cytokeratine 4, 5, 6, 13 und 14 weitgehend negativ ausgefallen. Somit können wir die Expression plattenepitheltypischer Cytokeratin-Marker in der Barrettschleimhaut und folglich eine Verwandtschaft mit dem Plattenepithel, die histogenetisch relevant sein könnte (siehe unten), nicht bestätigen.

4.1.4. Schlussfolgerung für Biologie und Phänotyp

Wie bereits oben ausgeführt, entspricht der Cytokeratin-Phänotyp des Barrettepithels einem gastrointestinalen Phänotyp mit gastralem (und weniger intestinalem) Schwerpunkt. Allerdings sei darauf hingewiesen, dass bislang keine normale Epithelzelle bekannt ist, deren Muster mit dem des Barrettypischen Cytokeratin 7/20-Muster völlig identisch ist. Konkret ist in dem der Barrettmukosa noch ähnlichsten Epithel, dem Magenfoveolenepithel, die Expressionsstärke von Cytokeratin 7 im Vergleich zu der des Barrettepithels geringer. Dies äußert sich zum einen an einer quantitativ verminderten Anfärbung für den Klon OV-TL 12/30 und in der sehr spärlichen Anfärbung für den Klon Ks 7.18. Möglich erscheint jedoch, dass es andere pathologische Zelltypen gibt, die dem Barrettepithel im Cytokeratin 7/20-Muster weitgehend gleichen. Hier ist insbesondere das Regenerationsepithel der Magenschleimhaut zu nennen, wie es z.B. in der Umgebung von peptischen Ulzera auftritt und in dem eine Hochregulation von Cytokeratin 7 beschrieben wurde (Stosiek et al., 1991). Diese Beobachtung steht in Beziehung zu sogenannten „ulcer-associated cell line“ (UACL), wie dies von Hanby et al., (1993) postuliert worden ist.

4.1.5. Schlussfolgerungen für die Histogenese in Beziehung zu den verschiedenen existierenden Hypothesen

Anhand unserer Ergebnisse der Cytokeratin-Expression im Barrettepithel und in verschiedenen Vergleichsgeweben können folgende Schlussfolgerungen zur Histogenese des Barrettepithels gezogen werden:

Gegen den Ursprung des Barrett-Ösophagus aus dem ösophagealem Plattenepithel sprechen:

- das Barrett-typische Cytokeratin 20 fehlt nicht nur im Plattenepithel des adulten Ösophagus, sondern auch im Epithel des fötalen Ösophagus, daher liegt auch keine Reexpression von fötalen Epithelcharakteristiken vor
- die plattenepithelialen Cytokeratine 4, 5, 6, 13, 14, die nicht nur im adulten, sondern auch bereits im fötalen Ösophagus exprimiert werden, sind im Barrettepithel negativ (Cytokeratin 5 größtenteils negativ).

Für den Ursprung des Barrettepithels aus dem Magendarmepithel sprechen:

- die in allen Fällen nachweisbare Expression von Cytokeratin 20,
- die Oberflächenbetonung mit Cytokeratin 20, die sich auch im Magen und im Dünndarm sowie gemäß der Literatur (Moll, 1993) auch im Dickdarm findet,
- die relative Ähnlichkeit des Cytokeratin 7/Cytokeratin 20-Musters des Magenfoveolenepithels mit dem des Barrettepithels, was eine Entstehung des Barrettepithels speziell aus Stammzellen der Magenschleimhaut plausibel machen würde.

Der biologische Phänotyp der Barrettschleimhaut gleicht somit dem eines Magen-Darm-Gewebes, jedoch besitzt er keine Übereinstimmungen mit Plattenepithelstrukturen.

Wie sind nun unsere Ergebnisse hinsichtlich der vier aus der Literatur bekannten Hypothese zur Histogenese der Barrettepithels (siehe Einleitung S.24) einzuordnen?

- 1) Aus kongenitalen Resten von Magenepithel im Ösophagus (Goldman et al., 1960)

Dies wäre als eine kongenitale Anlage anzusehen, bei der es konsekutiv zu einer metaplastischen Umwandlung des Magenepithels zu Barrettepithel kommen müsste. Formal wären die vorliegenden Cytokeratin-Ergebnisse auch mit dieser Hypothese vereinbar. Dagegen spricht jedoch, dass kongenitale Magenschleimhautheterotopien im Ösophagus überwiegend in den proximalen Ösophagusabschnitten vorkommen, in denen es praktisch nie zu einer Barrettmetaplasie kommt. Diese Hypothese wird daher heute kaum noch vertreten.

- 2) Kolonisierung durch Magenkardiaepithel (Bremner et al., 1970; Hage et al., 1972; Levine et al., 1989).

Dies wäre als ein ektopter Ersatz des durch die Refluxösophagitis zugrundegegangenen Plattenepithels des distalen Ösophagus durch hochwachsendes gastrales Epithel aufzufassen. Auch hierbei wäre konsekutiv eine Magenkardia-Barrett-Metaplasie zu fordern, ein Vorgang der in der Literatur bereits belegt ist (Fisher et al., 2003; Peitz et al., 2004). In der Tat wären die vorliegenden Ergebnisse sehr gut mit dieser Kolonisierungshypothese, die in letzter Zeit mehr in den Hintergrund getreten ist, vereinbar.

- 3) Aus Ösophagusdrüsen (bzw. Ausführungsgängen dieser Drüsen) (Gillen et al., 1988; Li et al., 1994; Wright, 1996; Glickmann et al., 2001).

Hierbei wäre eine Drüsen-Barrett-Metaplasie zu fordern. Dagegen spricht das völlige Fehlen von Cytokeratin 20 in den adulten Ösophagusdrüsen sowie auch das Fehlen von Cytokeratin 20 in den Vorläuferzellen dieser Drüsen, nämlich dem fötalen Ösophagusepithel.

Wenn sich das Barrett-Epithel tatsächlich aus den Ösophagusdrüsen entwickeln würde, müsste die CK20-Expression völlig de novo eintreten, was angesichts der generellen Stabilität der Cytokeratin-Expressionsmuster wenig

wahrscheinlich erscheint. Ein weiteres Argument gegen diesen Mechanismus ist das konstante Vorkommen von CK5-positiven Zellen in Endstücken und Ausführungsgängen der Ösophagusdrüsen, während dieses Cytokeratin in der Barrettmukosa fehlt. Bei einer angenommenen Entstehung des Barrett-Epithels aus Ösophagusdrüsen wäre zu erwarten, dass im Barrett-Epithel CK5-positive Zellen vorhanden sein sollten, doch gemäß unseren ausgedehnten Screening-Untersuchungen zahlreicher Barrett-Schleimhautproben waren nirgends auch nur Reste solcher CK5-positiven Zellen nachzuweisen.

- 4) Aus dem Plattenepithel des Ösophagus, speziell aus multipotenten epithelialen Stammzellen in der Basalschicht des ösophagealen Plattenepithels (Shields et al., 1993; Salo et al., 1996; Boch et al., 1997; Glickmann et al., 2001).

Hierbei wäre eine metaplastische Umwandlung von Plattenepithel zum Barrettepithel im Sinne einer Transdifferenzierung zu fordern. Wie oben aufgeführt, würde diese Hypothese implizieren, dass im Barrettepithel noch zumindest gewisse Differenzierungseigenschaften des Plattenepithels aufrecht erhalten und immunhistochemisch detektierbar bleiben sollten. Dass dies nicht der Fall ist, hat die vorliegende Arbeit aufgezeigt. Es waren keine plattenepithelialen Differenzierungsmarker im Barrettepithel nachweisbar. Auch können wir die Postulate von plattenepithelial-drüsenepithelialen Hybridzellen (Shields et al., 1993; Boch et al., 1997; Glickman et al., 2001) nicht bestätigen. Wenn eine plattenepitheliale Stammzelle die Ursprungszelle des Barrettepithels wäre, könnte auch erwartet werden, dass plattenepitheliale Eigenschaften während der Dysplasie- und der Karzinomentwicklung wieder in Erscheinung treten, im Sinne einer onkofötalen Reexpression. Auch dies ist, wie im Folgenden noch erläutert werden wird, nicht der Fall. Hinzu kommt, dass weder im adulten noch im fötalen Ösophagus Cytokeratin 20 nachweisbar ist. Eine Plattenepithel-Barrett-Metaplasie würde somit mit einer kompletten Umschaltung des Cytokeratinphänotyps (Abschalten plattenepithelialer Cytokeratine, Anschalten von Cytokeratin 20) einhergehen müssen. Solche radikalen Änderungen im Cytokeratinmuster sind bei anderen Formen der Metaplasie nicht bekannt. So findet sich in den Progenitorzellen der bronchialen

Plattenepithelmetaplasie bereits das plattenepitheltypische Cytokeratin 5 (Barth et al., 2000). Somit halten wir diese Hypothese aufgrund unserer Ergebnisse für wenig wahrscheinlich.

Es sei hier allerdings erwähnt, dass sich einige neuere Publikationen für die Transdifferenzierungs-Hypothese aussprechen (siehe auch Jankowski et al., 2000). So wurde die Expression des intestinalen Transkriptionsfaktors CDX2 sowohl in entzündlich veränderter Ösophagusschleimhaut als auch in dem Barrett-Epithel (Eda et al., 2003) als ein Argument dafür interpretiert, dass sich das Barrett-Epithel aus der entzündlich veränderten Ösophaguskukosa entwickelt und die Expression von CDX2 ein frühes Ereignis in diesem Geschehen sei. Die in dieser Publikation dargestellten Lokalisationsmuster von CDX2 (nukleäre Färbung im Barrett-Epithel gegenüber einer zytoplasmatisch granulären und perinukleären Färbung im Plattenepithel und in Drüsen des Ösophagus) werfen hier jedoch Fragen auf (zur nukleären Expression von CDX2 im Barrett-Epithel siehe auch Phillips et al., 2003). In einem Tierexperiment an der Ratte, in dem durch einen duodenogastralen Reflux eine Barrett-Schleimhaut des Ösophagus induziert wurde, beschrieben Kumagai et al. (2003) als initiale Veränderung der Ösophaguskukosa eine pylorische foveoläre Metaplasie, die sich in einer zweiten Stufe in eine intestinale Metaplasie i.S. einer Barrett-Schleimhaut fortentwickelt. Die Autoren postulieren, dass die pylorische foveoläre Metaplasie über eine Transdifferenzierung des Ösophagusepithels entsteht. Allerdings findet dieser Prozess sporadisch und multifokal statt und scheint somit nicht mit der kontinuierlich zungenförmigen Ausbildung der humanen Barrett-Metaplasie vergleichbar zu sein.

Man könnte nun noch argumentieren, dass die Expression von Cytokeratin 8 und Cytokeratin 19 in Basalzellen des ösophagealen Plattenepithels, somit auch in mutmaßlichen multipotenten Stammzellen, doch für diesen Weg der Histogenese spricht, weil diese beiden Cytokeratine auch im Barrettepithel stark exprimiert werden. In der Tat gibt es zylinderepitheliale Strukturen mit Expression von Cytokeratin 8 und Cytokeratin 19, die in der normalen Embryogenese aus plattenepithelialen Basalzellen entstehen (wie z.B. die

Entstehung von Schweißdrüsen aus der fötalen Epidermis und die Entstehung von submukösen Drüsen der Mund-Rachen-Ösophagus-Schleimhaut). Jedoch weisen die genannten Drüsen keinen reinen zylinderepithelialen Phänotyp auf, sondern stets noch Äquivalente des mehrreihigen Epithels im Sinne von Basal- bzw. Myoepithelzellen mit einer Expression von plattenepithelialen Cytokeratinen wie Cytokeratin 5. Solche Zellen fehlen im Barrettepithel komplett, wie auch die vorliegende Screening-Reihe von 250 Fällen gezeigt hat. Insgesamt kann man sagen, dass unter Berücksichtigung anderer Beispiele von Metaplasien oder Differenzierungsänderungen eine Plattenepithel-Barrett-Metaplasie als höchst ungewöhnlich anzusehen wäre.

Gemäß unserer Hypothese wäre zu erwarten, dass die initiale Läsion des Barrett-Ösophagus einer Kardiatypischen Schleimhaut entspricht, aus der sich sekundär die spezialisierte Barrett-Schleimhaut entwickelt. Dieser Prozess, also eine sekundäre metaplastische Umwandlung der primär entstandenen kardiatypischen Schleimhaut in die Barrett-Schleimhaut, ist in der Literatur mehrfach belegt. So konnten Fisher et al. (2003) zeigen, dass nach Laserablation eines Barrett-Ösophagus das Barrett-Rezidiv mit einer kardiatypischen Mukosa beginnt, die auch für den Marker Das-1 (ein Kolonepithelprotein) positiv ist. Die Autoren konnten allerdings nicht belegen, dass diese kardiatypische Schleimhaut tatsächlich *de novo* aus dem Plattenepithel entsteht, denn sie könnte auch von durch die Laserablation nicht erfassten Resten der vorbestehenden Barrettmukosa ausgehen. Auch die Befunde von Dresner et al. (2003) sprechen für eine sekundäre Entstehung der spezialisierten intestinalen Barrett-Metaplasie aus einer Kardiaschleimhaut bzw. Kardiametaplasie.

Zusammenfassend gehen wir anhand unserer Ergebnisse am ehesten von einem Hochwandern des gastralen Epithels in den geschädigten Ösophagus aus. Denkbar wäre auch eine Absiedlung gastraler Zellen im Bereich des distalen Ösophagus. Insgesamt passen unsere Ergebnisse wesentlich besser zu einer Lokalisation der Barrett-Stammzelle in der Magenkardia als im Plattenepithel oder den Drüsen des Ösophagus. Sie sind damit vereinbar mit der Kolonisationshypothese (Hypothese Nr. 2, siehe oben), wobei zusätzlich

der oben diskutierte sekundäre metaplastische Prozess (Umwandlung von Kardial-typischer Schleimhaut zu Barrett-Schleimhaut) mit einbezogen sein müsste. Ein Beweis kann allerdings auch in der vorliegenden Arbeit nicht erbracht werden. Die Barrett-Stammzelle ist nach wie vor unbekannt. Nur experimentelle Untersuchungen könnten in der Zukunft eine Klärung dieser biologisch und klinisch wichtigen Frage erreichen.

Ein anderer Aspekt soll hier noch kurz angesprochen werden, nämlich die Frage, ob aus einer Barrettmukosa sekundär wieder ein Plattenepithel oder zumindest ein mehrschichtiges Epithel entstehen kann, sozusagen eine Art „Rück-Metaplasie“. In diesem Kontext haben wir eine große Screening-Serie von 250 Barrett-Fällen bearbeitet und auf die Cytokeratine 5 und 17 gefärbt. Bis auf einen im Ergebnisteil beschriebenen Fall einer mehrschichtigen Läsion, deren Bedeutung offen bleiben muss, konnten wir keine eindeutigen Korrelate eines solchen Prozesses auffinden. Auch ließen sich in dieser Serie – sieht man von dem genannten Fall ab - keine sicheren Äquivalente für das von Boch et al. (1997) und Glickmann et al. (2001) beschriebene „multilayered epithelium“ auffinden, so dass, wenn ein solches existiert, dieses in der Regel nicht durch eine Expression plattenepithelialer Cytokeratine gekennzeichnet sein sollte. Plattenepitheliale Cytokeratine erscheinen auch nicht während der Barrett-Dysplasie-Karzinom-Sequenz.

4.2. Adhäsionsmolekül-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit Epithelien von Magen, Dünndarm, intestinaler Metaplasie, fötalem Ösophagus und adultem Ösophagus)

4.2.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde

E-Cadherin

Das mit den Klonen 5H9 und HECD-1 getestete E-Cadherin fand sich sowohl in der intestinalen Metaplasie als auch im foveolären Magenepithel zu 100%. Im Barrettepithel und der Dünndarmschleimhaut war die Zahl der membrangefärbten Zellen etwas geringer. Das zelluläre Färbemuster für E-Cadherin im Barrettepithel war gleichmäßig linear entlang der lateralen Zellmembran verteilt. Die Zellen des fötalen Ösophagusgewebes zeigten positive Reaktionen in allen Zellschichten.

Desmoglein 2, Desmocollin 2

Die desmosomalen Cadherine Desmoglein 2 und Desmocollin 2 konnten in allen hier untersuchten Gewebearten eindeutig nachgewiesen werden. Einzig auffällig war dabei eine leichte Reduzierung von Desmocollin 2 im Bereich der Kryptenzonen (nicht bei der intestinalen Metaplasie) und beim fötalen Ösophagus im Bereich der Luminal- und Basalschicht. Es zeigte sich in den untersuchten Zylinderepithelien einschließlich des Barrettepithels eine Polarität in der Lokalisation des Desmoglein 2 und Desmocollin 2. Die an der lateralen Membran gefundene betont apikale Anfärbung lässt auf eine entsprechende Lokalisation der Desmosomen schließen.

Desmogleine 1, 3, Desmocolline 1, 3

Bis auf vereinzelte Ausnahmen komplett negativ waren die Desmocolline 1 und 3 und die Desmogleine 1 und 3 beim Barrettepithel, der intestinalen Metaplasie, der foveolären Magenschleimhaut und der Dünndarmschleimhaut. Im fötalen Ösophagus fanden sich Desmoglein 3 und Desmocollin 3 in allen Schichten, Desmocollin 1 und Desmoglein 1 konnten nicht gefunden werden.

Die im adulten Ösophagus, in der foveolären Magenschleimhaut und der Dünndarmschleimhaut nachgewiesenen Desmogleine und Desmocolline stimmten mit den in der Literatur gefundenen Ergebnissen überein. Im folgenden werden die erhobenen Daten für die desmosomalen Cadherine nochmals tabellarisch dargestellt:

Tabelle 4.2: Übersicht der Desmogleine in den untersuchten Geweben

	DSG 1	DSG 2	DSG 3
Ösophagus adult	+	+	+
foveoläres Magenepithel	-	+	-
Dünndarm	-	+	-
Barrett-Ösophagus	-	+	-
Intestinale Metaplasie	-	+	-

Tabelle 4.3: Übersicht der Desmocolline in den untersuchten Geweben

	DSC 1	DSC 2	DSC 3
Ösophagus adult	-	+	+
foveoläres Magenepithel	-	+	-
Dünndarm	-	+	-
Barrett-Ösophagus	-	+	-
Intestinale Metaplasie	-	+	-

Plakophilin 2

Die Ergebnisse mit Plakophilin 2 konnten beim foveolären Magenepithel und im fötalen Ösophagus nicht ausgewertet werden. Ansonsten reagierte der Antikörper in den untersuchten Geweben inklusive des Barrettepithels positiv, jedoch sehr inhomogen in Intensität und Verteilung.

4.2.2. Biologische Einordnung der Adhäsionsmolekül-Befunde des Barrettepithels

Das Barrettepithel zeigt zusammengefasst für die untersuchten Adhäsionsmoleküle folgende Ergebnisse:

- positiv für E-Cadherin
- positiv für Desmoglein 2 und Desmocollin 2
- negativ für Desmoglein 1 und 3
- negativ für Desmocollin 1 und 3
- positiv für Plakophilin 2

Anhand dieser Ergebnisse kann man das Barrettepithel als polares Zylinderepithel einordnen. Es weist die hierfür typische Konstellation der desmosomalen Cadherine auf; die für mehrschichtige Epithelien typischen Desmocolline 1 und 3 und Desmogleine 1 und 3 werden nicht exprimiert, dafür jedoch die ubiquitären desmosomalen Cadherine Desmoglein 2 und Desmocollin 2. Die Polarität der Zelle wird durch die meist apikale Lokalisation von Desmoglein 2 und Desmocollin 2 unterstrichen. In Übereinstimmung mit den Cytokeratin-Befunden liefern die Adhäsionsmolekül-Befunde ein weiteres gewichtiges Argument für die Anschauung, dass im Barrettepithel keine plattenepithelialen Differenzierungseigenschaften entwickelt sind.

4.2.3. Korrelation mit der Literatur

E-Cadherin

E-Cadherin spielt eine bedeutende Rolle in der Zell-Zell-Adhäsion in verschiedenen Epithelien. Es konnte in allen hier untersuchten Gewebearten gefunden werden. Im Magenepithel fanden Shiozaki et al. (1991), Cai et al. (1994) und Shino et al. (1995) eine eindeutige E-Cadherin-Expression. Eine positive Reaktion des E-Cadherin in der intestinalen Metaplasie fanden Shino et al. (1995) und Cai et al. (1994), während hingegen bei Mingchao et al. (2001) eine starke Reduktion von E-Cadherin in der intestinalen Metaplasie beschrieben wurde, was diese Autoren als Zeichen eines frühen Ereignisses in

der gastralen Karzinogenese gewertet haben. Unsere Ergebnisse stimmen mit den in den beiden ersten Studien (Shino et al., 1995; Cai et al., 1994) genannten Daten überein, es zeigte sich eine deutliche E-Cadherin Reaktion in den von uns untersuchten Epithelien des Magens und der intestinalen Metaplasie.

In der Barrettschleimhaut (ohne Dysplasie) wird in der Literatur einheitlich über eine positive, membranöse E-Cadherin-Färbung berichtet (Jankowski et al., 1994; Swami et al., 1995; Washington et al., 1998; Bailey et al., 1998; Seery et al., 1999), was mit unseren Befunden voll übereinstimmt.

Desmogleine 1, 2, 3, Desmocolline 1, 2, 3

Die Expression von Desmogleinen und Desmocollinen ist gewebespezifisch. Desmoglein 2 und Desmocollin 2 finden sich in allen Geweben, die Desmosomen beinhalten, während die anderen Desmogleine und Desmocolline nur in bestimmten Epithelgeweben nachzuweisen sind (Butz et al., 1992). Für den adulten Ösophagus, den Magen und den Dünndarm stimmen unsere Ergebnisse zu den desmosomalen Cadherinen mit den früheren Ergebnissen von Nuber et al. (1994), Schmidt et al. (1994), Moll et al. (1994), Schäfer et al. (1997) voll überein.

Bezüglich des Barrett-Ösophagus gibt es in der Literatur bislang nur eine Arbeit, die desmosomale Cadherine analysiert hat (Morris et al., 2001). Hinsichtlich der Expression von Desmoglein 2 und Desmocollin 2 und dem Fehlen von Desmoglein 1, Desmoglein 3 und Desmocollin 3 stimmen unsere Ergebnisse mit der genannten Studie überein. Eine Diskrepanz findet sich jedoch hinsichtlich Desmocollin 1: Hier finden Morris et al. (2001) eine Expression im Barrettepithel, die jedoch nicht – wie die anderen desmosomalen Cadherine – in der Zellmembran, sondern hauptsächlich im Cytoplasma lokalisiert war. Die von uns gefundenen Ergebnisse für Desmocollin 1 waren jedoch sowohl im Bereich der Zellmembran als auch des Cytoplasmas komplett negativ (weiteres siehe später). Eine eindeutige Erklärung für diese Diskrepanz kann nicht angeboten werden. Da eine Expression eines mit hoher plattenepithelialer Ausreifung verbundenen Moleküls, wie das für das Desmocollin 1 gilt, im

Zylinderepithel der Barrettmukosa und zudem eine zytoplasmatische Lokalisation desselben sehr ungewöhnlich erscheinen, ist nicht auszuschließen, dass es sich hier um eine Kreuzreaktion des von Morris et al. (2001) verwendeten Antikörpers mit einem unbekannten zytoplasmatischen Protein handelt.

Hinsichtlich des fötalen Ösophagus liegen in der Literatur noch keine Daten zu desmosomalen Cadherinen vor. In der vorliegenden Arbeit fanden sich im fötalen Ösophagus alle auch im Plattenepithel des adulten Ösophagus aufgefundenen desmosomalen Cadherine mit Ausnahme von Desmoglein 1. Der Grund für das Fehlen des Desmoglein 1 im fötalen Gewebe könnte daran liegen, dass dieser Typ der Cadherine erst in einem späteren Stadium der fötalen Entwicklung angeschaltet wird, wenn der Grad der plattenepithelialen Reife steigt, da sich während der Differenzierung von Zellen die Menge und Art der Cadherin-Expression ändert.

Plakophilin 2

Das Plakophilin 2 ist ein weit verbreiteter Plaque-Bestandteil von Desmosomen, nicht nur in den meisten einschichtigen Epithelien und bestimmten nichtepithelialen Geweben, sondern auch in mehrschichtigen Epithelien. Auch in den entsprechenden Tumoren konnte Plakophilin 2 gefunden werden. Es findet sich in allen epithelialen Desmosomen, nicht jedoch in der Zonula adhaerens (Mertens et al., 1996). Die hier erzielten Ergebnisse mit dem Antikörper gegen Plakophilin 2 zeigten unterschiedliche Reaktionen. Teilweise ergaben sich diffuse Reaktionen; ob es sich hierbei um Hintergrundreaktionen oder Kreuzreaktionen handelt, ist unklar. Trotzdem ließen sich in einer Reihe von Fällen klare punktförmige Membrananfärbungen erzielen. Die im Barrettepithel und in der intestinalen Metaplasie gefundenen Ergebnisse zeigten solche deutlichen Reaktionen des Plakophilin 2-Antikörpers. Diese Befunde sind hier erstmals erhoben. Sie bestätigen, dass es sich bei den Desmosomen des Barrettepithels um echte, vollständige Desmosomen handelt.

4.2.4. Schlussfolgerungen

Die Adhäsionsmoleküle im Barrettepithel sind denen der zylinderepithelialen Epithelien wie Magen- und Dünndarmschleimhaut gleich. Auch die intestinale Metaplasie der Magenschleimhaut zeigt ein dem Barrettepithel verwandtes Adhäsionsmolekül-Bild. Die Verteilung der Desmoglein 2-Strukturen am apikalen Teil der lateralen Zellmembran unterstreicht die Polarität dieser zylinderepithelialen Zellen. Plattenepitheliale Charakteristika sind jedoch auch im Barrettepithel nicht vorhanden. Es finden sich keine der für mehrschichtige oder mehrreihige Epithelien typischen Desmogleine 1 und 3 oder Desmocollin 1 und 3. Die im Vergleich identische Cadherin-Expression des Barrettepithels mit den anderen einschichtigen gastrointestinalen Epithelien lässt auf eine Verwandtschaft dieser Gewebearten schließen. Wenn die Ursprungszelle des Barrettepithels im Plattenepithel des Ösophagus liegen sollte, so sollte auch im Barrettepithel eine zumindest partielle Expression von Desmoglein 1 und 3 und Desmocollin 3 zu erwarten sein, was nicht der Fall ist. Wie schon für die Cytokeratine oben aufgeführt, ist die Theorie einer metaplastischen Umwandlung des Barrettepithels aus einer Plattenepithelvorstufe somit auch mit diesen Markern nicht zu bestätigen.

4.3. Cytokeratin-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit low-grade Dysplasie und Adenokarzinom der Barrettmukosa)

4.3.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde

Zylinderepitheliale Cytokeratine 7, 20

Die Cytokeratin 7/20-Expression der Barrettschleimhaut zeigte eine deutliche Veränderung im Verlauf der Dysplasie-Karzinom-Sequenz. Im Vergleich zum Barrettepithel ohne Dysplasie war die Cytokeratin 20-Expression im Barrettepithel mit Dysplasie und im Barrett-Adenokarzinom stark reduziert. Die Werte des Cytokeratin 7 dagegen blieben konstant.

Ausnahmen fanden sich in zwei Fällen von low-grade Dysplasie (von denen einer „Kolon-Adenom-ähnlich“ war) und in den zwei morphologisch als „Kolon-Karzinom-ähnlich“ eingeordnete Fällen des Adenokarzinoms. Diesen gemeinsam war eine vermehrte Expression von Cytokeratin 20. Die beiden stark Cytokeratin 20-positiven Fälle der low-grade Dysplasie zeigten eine Reduktion an Cytokeratin 7. Bei den zwei Adenokarzinomen hingegen war Cytokeratin 7 stark exprimiert und somit kein Unterschied zu den übrigen Fällen festzustellen.

Zylinderepitheliale Cytokeratine 8, 18, 19

Die Cytokeratine 8, 18 und 19 konnten auch bei der low-grade Dysplasie einheitlich positiv gewertet werden. Das Gleiche gilt auch für das im Adenokarzinom untersuchte Cytokeratin 8.

Cytokeratin 17

Eine variable Verteilung des Cytokeratin 17 fand sich ebenso wie im Barrettepithel in der low-grade Dysplasie und dem Adenokarzinom. Die stärkste Färbung zeigten die oben bereits erwähnten Cytokeratin-20-starken Fälle.

Plattenepitheliale Cytokeratine 5, 6

Die Cytokeratine 5 und 6 zeigten im Vergleich mit dem Barrettepithel gleiche Ergebnisse. Cytokeratin 6 (nur in der low-grade Dysplasie untersucht) konnte

als negativ gewertet werden, wo hingegen sich vereinzelt positive Ergebnisse bei Cytokeratin 5 zeigten.

Plattenepitheliale Cytokeratine 4, 13, 14

Die hier beschriebenen Cytokeratine 4, 13 und 14, welche nicht im Adenokarzinom untersucht wurden, waren mit wenigen, nicht als relevant zu betrachtenden Ausnahmen im Barrettepithel mit und ohne Dysplasie negativ.

4.3.2. Korrelation mit der Literatur

Im Laufe der Barrett-Dysplasie-Karzinom-Sequenz kann allgemein gesagt werden, dass in den einzelnen Stadien die Cytokeratin-Expression überwiegend konstant bleibt. Dies entspricht den Befunden aus der Literatur, nämlich dass die Cytokeratin-Muster während der Karzinomentwicklung relativ konstant bleiben und somit durch den Nachweis bestimmter Cytokeratinmuster vielfach ein Rückschluss auf den Tumorursprung getroffen werden kann (Moll et al., 1982; Moll, 1998). Eine Ausnahme bildet hier Cytokeratin 20. Wir konnten im Verlauf der Dysplasie-Karzinom-Sequenz eine Abnahme der Cytokeratin 20-Expression feststellen. Moll et al. zeigten 1992, dass in bestimmten Tumorarten wie z. B. dem Magenkarzinom oder Transitionalzellkarzinom der Harnwege die Cytokeratin 20-Expression nicht mehr ganz so stark oder konstant vorhanden ist wie in den Ursprungsgeweben. Bei kolorektalen Karzinomen hingegen konnte kein Verlust an Cytokeratin 20 erkannt werden (Moll et al., 1992). Auffallender Weise zeigten genau die von uns als Kolonadenom-ähnlichen bzw. Kolonkarzinom-ähnlichen Fälle keine Verminderung der Cytokeratin 20-Expression. Es liegt also bei diesen Fällen eine Übereinstimmung des Cytokeratin 20-Verhaltens mit dem kolorektalen Adenokarzinom vor.

In der Literatur wurden die Cytokeratine 7 und 20 von Ormsby et al. (2001) und Shen et al. (2002) systematisch im Barrettkarzinom im Vergleich zum intestinale Metaplasie-assoziierten Adenokarzinom des Magens untersucht. Bei Ormsby et al. (2001) konnte in 90% der Barrettkarzinomfälle ein Barrettkarzinom-typisches Muster der Cytokeratine 7 und 20 (Cytokeratin 7+/Cytokeratin 20-) gefunden

werden. Im Gegensatz dazu wurde dieses Muster bei nur 21% der Magenkarzinome beobachtet. Ormsby et al. (2001) postulieren hierdurch eine wesentliche Hilfe bei der Unterscheidung der beiden Adenokarzinomformen anhand ihrer Cytokeratin 7/20-Muster. In einer Folgearbeit (Shen et al., 2002) wurde in 50 Fällen von gastral intestinaler Metaplasie-assoziierten Adenokarzinomen in 66% ein Phänotyp Cytokeratin 7+/Cytokeratin 20+, bei 24% ein Phänotyp Cytokeratin 7-/Cytokeratin 20+, in 8% ein Phänotyp Cytokeratin 7-/Cytokeratin 20- und in nur 2% (ein Fall) ein Phänotyp Cytokeratin 7+/Cytokeratin 20- gefunden. Es lag somit in dieser Arbeit in 98% der Fälle von Magenkarzinomen nicht das Barrettkarzinom-typische Muster Cytokeratin 7+/Cytokeratin 20- vor. Nach den Ergebnissen dieser beiden Arbeiten sollte eine Unterscheidung des intestinalen Metaplasie-assoziierten gastralen Adenokarzinoms vom Barrett-Adenokarzinom anhand der Cytokeratin 7/20-Expression möglich sein. Da wir aber anhand der Kolon-Karzinom-ähnlichen Fälle des Barrett-Karzinoms (ausgeprägte Cytokeratin 20-Reaktion) zeigen konnten, dass in einem Teil auch der Barrett-Karzinome eine ausgeprägte Cytokeratin 20-Expression vorhanden sein kann, sind wir der Ansicht, dass die Cytokeratine 7 und 20 nicht zu einer definitiven Unterscheidung zwischen diesen Tumorarten eingesetzt werden sollten. Die von Klinikern häufig an den Pathologen gestellte Frage, ob ein Adenokarzinom des gastroösophagealen Übergangs von einer Barrettmetaplasie oder von der Kardiaschleimhaut ausgeht, lässt sich somit anhand einer Cytokeratin 7/Cytokeratin 20-Typisierung allenfalls tendenziell, aber keineswegs definitiv beantworten. Eine interessante Frage wäre, ob sich die in unserer Studie durch ihre starke Cytokeratin 20-Expression abweichenden Barrett-Karzinom-Fälle von den übrigen, welche die Mehrzahl darstellen, biologisch und klinisch unterscheiden. Diese unter Umständen auch therapierelevante Frage erfordert jedoch weitergehende Untersuchungen mit größeren Fallzahlen.

4.3.3. Relevanz für die Diagnostik

Die hier erbrachten Ergebnisse der mit Cytokeratin-Antikörpern gefärbten Barrettschleimhaut mit und ohne Dysplasie und des Adenokarzinoms des Barrett-Ösophagus lassen für die Diagnostik der einzelnen Erkrankungsstufen folgende Schlussfolgerung zu: die meisten Cytokeratine zeigen ein im Dysplasie-Verlauf zum Ursprungsgewebe (dem Barrettepithel) unverändertes Färbeverhalten, somit keine diagnostische Relevanz. Eine mit Vorsicht zu betrachtende Ausnahme zeigt sich für das Cytokeratin 20. Im Verlauf der Dysplasie-/Tumorentwicklung kommt es in den meisten Fällen zu einer Abnahme dieses Cytokeratins (Ormsby et al., 2001; Shen et al., 2002; vorliegende Arbeit). Dies gilt jedoch nicht für die Kolon-artigen Läsionen. Da die Einstufung einer Barrett-Läsion als Kolon-Adenom/Kolon-Karzinom-ähnlich kein eindeutiges Kriterium ist, sollte die Diagnose eines Dysplasie-/Tumorstadiums und auch die Feststellung des Karzinom-Ursprungs im Barrett-Ösophagus bzw. in der Magenkardia nicht anhand der Cytokeratin-20-Expression festgelegt werden. Allenfalls sind Wahrscheinlichkeitsaussagen dahingehend möglich, dass bei einem Adenokarzinom im gastroösophagealen Übergangsbereich (das üblicherweise eine stark positive Cytokeratin 20-Expression zeigt) eine fehlende oder spärliche Cytokeratin 20-Expression eher mit einem Barrett-Karzinom vereinbar ist, während eine stärkergradige Cytokeratin 20-Expression mehr für ein Magenkarzinom spricht.

4.4. Adhäsionsmolekül-Befunde in nicht-dysplastischem Barrettepithel (und Vergleich mit low-grade Dysplasie und Adenokarzinom der Barrettmukosa)

4.4.1. Kurzzusammenfassung der eigenen Befunde

E-Cadherin

Alle untersuchten Gewebearten zeigten eine ausgedehnte Färbung. Die low-grade Dysplasie reagierte mit einem durchweg hohen Prozentsatz an gefärbten Zellen, das Barrettepithel und das Adenokarzinom zeigten z.T. auch Färbungen mit einem geringen Prozentsatz an gefärbten Zellen.

Desmoglein 2, Desmocollin 2

Das desmosomale Cadherin Desmoglein 2 zeigte eine deutliche und sehr einheitliche Anfärbung bei den untersuchten Läsionen. Anders dagegen das Desmocollin 2, bei welchem sich ein variables, aber trotzdem deutlich positives Ergebnis im Barrettepithel mit und ohne Dysplasie und im Adenokarzinom des Barrett-Ösophagus zeigte.

Desmogleine 1, 3, Desmocolline 1, 3

Im Barrettepithel ohne und mit Dysplasie untersuchten Cadherine Desmoglein 1 und 3 und Desmocollin 1 und 3 konnten hier nicht nachgewiesen werden.

Plakophilin 2

Im Vergleich zum Barrettepithel ohne Dysplasie zeigten das low-grade Dysplasieepithel und das karzinomatös veränderte Epithel eine einheitlichere Färbung für Plakophilin 2, allerdings fanden sich auch unter den Karzinomfällen drei, welche keinerlei Färbung erkennen ließen.

4.4.2. Korrelation mit der Literatur

E-Cadherin

Untersuchungen von Normalepithelien und ihren dysplastischen und tumorösen Veränderungen hinsichtlich der Expression von E-Cadherin sind von vielen Forschungsgruppen unternommen worden. Es scheint sich bei vielen Karzinomarten eine Veränderung, insbesondere Reduktion der E-Cadherin-Expression im Verlauf der Gewebeentartung abzuspielen. Die veränderte E-Cadherin-Expression korreliert zum Teil mit dem Verlust der Differenzierung und dem Stadium der Erkrankung (Jankowski et al., 1994). Im Fall der Barrett-Dysplasie-Karzinom-Sequenz beschrieben sowohl Swami et al. (1995), Washington et al. (1998) als auch Bailey et al. (1998) eine Abnahme der E-Cadherin-Expression im Verlauf der Tumorgenese. Unsere Ergebnisse ließen dagegen keinen systematischen Verlust an E-Cadherin im Verlauf der dysplastischen und malignen Veränderungen erkennen. Einige Barrettkarzinome zeigten sogar eine vergleichsweise starke und homogene Expression von E-Cadherin (s. Tabelle „E-Cadherin, 5H9; Barrettkarzinom“). Die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien im Vergleich zu den hier gewonnenen Daten können nicht auf unterschiedlichen Nachweismethoden beruhen, da sowohl Bailey et al. (1998) als auch Washington et al. (1998) die Immunhistochemie als Nachweismethode gewählt hatten. Bei Bailey et al. (1998) wurde auch derselbe Antikörperklon (HECD-1) verwendet, der auch in unserer Studie zum Einsatz kam. Bei Bailey et al. (1998) wandelte sich die Färbung im Verlauf der Barrettepithel-Dysplasie-Karzinom-Sequenz von der Membran zum Cytoplasma. Auch Seery et al. (1999) bestätigten mit ihren Daten dieses Phänomen. Laut Bailey et al. (1998) könnte die Cytoplasmafärbung darauf hinweisen, dass durch die Tumorentwicklung ein Einbau des E-Cadherins in die Membran nicht mehr möglich ist. Diese Entwicklung konnten wir anhand unserer gewonnenen Daten nicht nachweisen. Die Cytoplasmafärbung mit E-Cadherin war stets deutlich geringer als die Membranfärbung und zeigte keine wesentlichen Änderungen im Verlauf der Gewebeentartung. Warum die hier gewonnenen Daten von den anderen abweichen, lässt sich nicht erklären. Sie zeigen jedoch, dass man nicht von einer gesetzmäßigen Verschiebung oder Veränderung der E-Cadherin-

Expression im Verlauf der Barrettepithel-Dysplasie-Karzinom-Sequenz ausgehen kann.

Desmogleine 1, 2, 3, Desmocolline 1, 2, 3

Bezüglich der desmosomalen Cadherine gibt es noch wenige Studien über deren Expression in epithelialen Tumoren (Schäfer et al., 1996; Alazawi et al., 2003). In unterschiedlichen Normalgeweben werden, wie oben aufgeführt, die drei Desmogleine und drei Desmocolline in sehr unterschiedlichen Mustern exprimiert. Bezüglich der Barrett-Dysplasie-Karzinom-Sequenz gibt es neben der hier vorliegenden Untersuchung bislang in der Literatur nur eine entsprechende Studie (Morris et al., 2001). In Übereinstimmung mit dieser Studie fanden wir, dass Desmoglein 2 und Desmocollin 2 im Verlauf der Dysplasie-Karzinom-Sequenz beibehalten werden, wobei Desmoglein 2 vergleichsweise stärker und einheitlicher exprimiert wird als Desmocollin 2. In Übereinstimmung mit unseren Daten konnten auch bei Morris et al. (2001) die Desmogleine 1 und 3 und das Desmocollin 3 nicht nachgewiesen werden. Eine Diskrepanz liegt hingegen hinsichtlich Desmocollin 1 vor: Wie bereits für die Barrettschleimhaut ohne Dysplasie oben aufgeführt, fanden diese Autoren eine vorherrschend zytoplasmatische Expression dieses Cadherins. Während der Dysplasie-Karzinom-Sequenz stieg diese zytoplasmatische Expression sogar noch an, so dass die Autoren eine Korrelation der zytoplasmatischen Desmocollin 1-Expression mit dem Stadium in der Barrett-Tumorgenese postulieren. Eine Erklärung für diese diskrepanten Befunde kann bislang nicht geliefert werden. Denkbar ist – wie ebenfalls bereits oben aufgeführt – eine Kreuzreaktion des von Morris et al. (2001) verwendeten Desmocollin 1-Antikörpers mit einem unbekannten zytoplasmatischen Protein. Abgesehen von diesem diskrepanten Befund zeigen die Ergebnisse mit den desmosomalen Cadherinen, dass sowohl die Barrettdysplasie als auch das Barrettkarzinom keine mit diesen Differenzierungsmarkern fassbaren plattenepithelialen Eigenschaften entwickelt. Dieses Nichterscheinen von plattenepithelialen Differenzierungsmarkern sowohl auf der Cytokeratinebene als auch auf der desmosomalen Cadherinebene werten wir als ein weiteres Argument dafür, dass die Barrettmukosa nicht von plattenepithelialen Vorläuferzellen ausgeht.

Plakophilin 2

Plakophilin 2 ist ein im Bereich der Pathologie noch nicht viel erforschter desmosomaler Bestandteil in Desmosomen. Untersuchungen der Barrettschleimhaut mit und ohne Dysplasie und des Barrett-Adenokarzinoms mit einem für Plakophilin 2 spezifischen Antikörper sind unseres Wissens in der Literatur noch nicht veröffentlicht worden. Mertens et al. (1999) untersuchten jedoch Adenokarzinome des Magens sowie oropharyngeale Plattenepithelkarzinome. Es zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Plakophilin 2-Expression dieser Tumoren. Bei den Adenokarzinomen des Magens zeigten alle Fälle eine Plakophilin 2-Expression. Dagegen waren über die Hälfte der oropharyngealen Plattenepithelkarzinome für Plakophilin 2 negativ. In unserer vorliegenden Untersuchung konnte für die Dysplasie-Karzinom-Sequenz des Barrettepithels in der Mehrzahl der Fälle eine starke Expression von Plakophilin 2 festgestellt werden. Das heißt, dass auch hier die Barrettschleimhaut in ihrer dysplastischen Entwicklung dem Magenepithel näher zu sein scheint als dem mehrschichtigen Plattenepithel.

4.4.3.Schlussfolgerung

Die erhobenen Befunde hinsichtlich der Expression von Adhäsionsmolekülen während der Barrett-Dysplasie-Karzinom-Sequenz unterstreichen zum einen den sehr stabilen zylinderepithelialen Charakter des Barrettepithels und seiner Progressionsstufen, während plattenepitheliale Adhäsionsmarker vollständig fehlen. Somit werden die bereits von den Cytokeratinen abgeleiteten Schlussfolgerungen auch hinsichtlich der Histogenese noch unterstrichen. In diagnostischer Hinsicht kann ein Einsatz dieser Adhäsionsmarker incl. des E-Cadherin jedoch nicht empfohlen werden.

5. Zusammenfassung

Der Barrett-Ösophagus als eine mit dem gastroösophagealen Reflux assoziierte Erkrankung mit wachsender Inzidenz ist trotz intensiver Forschung noch nicht in allen Bereichen endgültig entschlüsselt. Offene Fragen umfassen neben den molekularen Mechanismen der Entstehung der Dysplasie und des Adenokarzinoms auch die zellbiologischen Mechanismen der Histogenese des spezialisierten, metaplastischen, darmschleimhautähnlichen Barrettepithels im distalen Ösophagus. Als Hypothesen werden eine Entstehung aus kongenitalen Resten von Magenepithel im Ösophagus, eine Kolonisierung durch Magencardiaepithel (mit konsekutiver Barrett-Metaplasie), eine Entstehung aus Ösophagusdrüsen und eine Entstehung aus multipotenten epithelialen Stammzellen des ösophagealen Plattenepithels genannt. Die mehr als 20 Cytokeratin-Proteine, die als Intermediärfilamente und Strukturbausteine des Cytoskeletts in allen Epithelzellen von Vertebraten vorkommen, zeigen in verschiedenen Epithelgeweben eine unterschiedliche Verteilung und können somit als epitheliale Differenzierungsmarker dienen. Anhand der typischen Cytokeratinmuster können Rückschlüsse auf den epithelialen Zelltyp getroffen werden. Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle wie die klassischen und die desmosomalen Cadherine kommen an den Zellgrenzen als Bausteine der verschiedenen plaquehaltigen Zelladhäsionsstrukturen vor. Auch hier zeigen sich bestimmte Kombinationen von Molekülen in bestimmten Epitheltypen. In der vorliegenden Studie wurde ein breites Spektrum von Cytokeratinen (Cytokeratine 4, 5, 6, 7, 8, 13, 14, 17, 18, 19 und 20) und Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen (E-Cadherin, Desmoglein 1, 2, 3 und Desmocollin 1, 2, 3) sowie Plakophilin 2 in paraffineingebetteten Biopsien von Barrettmukosa (n = 37), Barrettmukosa mit low grade-Dysplasie (n = 6) und Barrett-assoziierten Adenokarzinomen (n = 10) mittels immunhistochemischer Färbungen untersucht. Vergleichend wurde auch normales foveoläres Magenepithel, die intestinale Metaplasie der Magencardia, Dünndarmepithel, Plattenepithel und Drüsen des adulten Ösophagus sowie fötales Ösophagusepithel analysiert.

In der Barrettmukosa fand sich eine Expression der zylinderepithelialen Cytokeratine 7, 8, 18, 19 und 20 sowie von Cytokeratin 17 (variabel), während

die plattenepithelialen Cytokeratine 4, 5, 6, 13 und 14 negativ waren, letzteres im Gegensatz zu einigen Berichten in der Literatur mit weniger gut definierten Antikörpern. Das in der Literatur beschriebene, für die Barrettmukosa typische Cytokeratin 7/20-Muster mit einer kompletten Färbung für Cytokeratin 7 und einer oberflächenbetonten Färbung für Cytokeratin 20 konnte bestätigt werden. Biologisch entspricht somit die Barrettmukosa anhand des Cytokeratinmusters einem zylinderepithelialen, speziell gastrointestinalen Phänotyp, der dem des Magenfoveolenepithels am nächsten steht, sich jedoch von dem der intestinalen Metaplasie der Magenschleimhaut unterscheidet. Bezüglich der Histogenese sprechen die Befunde gegen den Ursprung der Barrettmukosa aus ortständigen Strukturen des distalen Ösophagus, denn das Barrett-typische Cytokeratin 20 fehlt sowohl im Plattenepithel und in den submukösen Drüsen des adulten Ösophagus als auch im Epithel des fötalen Ösophagus (womit eine Reexpression fötaler Eigenschaften ausgeschlossen ist), und umgekehrt werden in allen genannten Strukturen plattenepitheliale Cytokeratine exprimiert, die in der Barrettmukosa fehlen. Die Befunde sind jedoch gut vereinbar mit einem Ursprung des Barrettepithels aus Cytokeratin 20-exprimierenden gastrointestinalen Epithelien, speziell aus Stammzellen des Magenfoveolenepithels im Sinne einer Kolonisierung, wobei ein Hochwandern des gastralen Epithels in den geschädigten Ösophagus oder eine Absiedlung gastraler Zellen im Bereich des distalen Ösophagus möglich erscheinen. Hinsichtlich der Adhäsionsmoleküle war die Barrettmukosa positiv für E-Cadherin, Desmoglein 2, Desmocollin 2 und Plakophilin 2, jedoch negativ für die für mehrschichtige Epithelien typischen Desmogleine 1 und 3 und Desmocolline 1 und 3. Auch diese Marker ließen somit keine plattenepithelialen oder hybriden Differenzierungseigenschaften der Barrettmukosa erkennen und unterstützen so die oben genannte histogenetische Schlussfolgerung. In einem Screening von 250 Fällen von Barrettmukosa auf die Cytokeratine 5 und 17 fand sich kein Hinweis einer „Rückmetaplasie“ dieses Epithels zu Plattenepithel.

Die Analysen der low grade-Dysplasie und des Barrett-Adenokarzinoms zeigten im Vergleich zur nicht-dysplastischen Barrettmukosa überwiegend eine Konstanz der Cytokeratin-Expression. Allerdings fand sich hinsichtlich Cytokeratin 20 in den meisten Fällen eine Abnahme der Expression, so dass in

der Regel das Cytokeratin 7/20-Verhältnis stark zugunsten von Cytokeratin 7 verschoben war. Es wurden jedoch einige Fälle von low grade-Dysplasie und Barrett-Adenokarzinom mit kolonartiger Morphologie beobachtet, die im Gegensatz zur Literatur eine deutliche Cytokeratin 20-Expression zeigten. Das Cytokeratin 7/20-Muster ist somit kein spezifischer Marker für die Diagnose der Dysplasie oder der malignen Transformation der Barrettmukosa oder für die Differentialdiagnose zwischen ösophagealer und gastraler Herkunft eines Adenokarzinoms des gastroösophagealen Übergangs, wenngleich bei letzterer Fragestellung eine tendenzielle Aussage möglich ist.

Die Expression von E-Cadherin blieb im Laufe der Barrett-Dysplasie-Karzinom-Sequenz weitgehend konstant, so dass der von mehreren Arbeitsgruppen beschriebene Verlust von E-Cadherin nicht bestätigt werden kann. Eine Expression plattenepithelialer Cytokeratine oder plattenepitheltypischer desmosomaler Cadherine im Laufe dieser Sequenz wurde nicht beobachtet, was als weiteres Argument dafür dienen kann, dass die Barrettmukosa keinerlei Verwandtschaft mit Plattenepithel aufweist.

Die vorliegenden Daten können als ein weiterer kleiner Schritt zu einem besseren Verständnis der Barrett-Erkrankung angesehen werden. Das Phänomen der sogenannten Barrett-Metaplasie ist jedoch noch nicht gelöst, und die Barrett-Stammzelle ist nach wie vor unbekannt. Nur weiterführende experimentelle oder molekulargenetische Untersuchungen könnten in der Zukunft eine Klärung dieser biologisch und klinisch wichtigen Frage erreichen.

Literaturverzeichnis

Alazawi WO, Morris LS, Stanley MA, Garrod DR, Coleman N

Altered expression of desmosomal components in high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix.

Virchows Arch. 2003;443(1):51-6

Armstrong D, Blum AL, Savary M

Reflux disease and Barrett's oesophagus.

Endoscopy. 1992;24(1-2):9-17

Bailey T, Biddlestone L, Shepherd N, Barr H, Warner P, Jankowski J

Altered cadherin and catenin complexes in the Barrett's esophagus-dysplasia-adenocarcinoma sequence: correlation with disease progression and dedifferentiation.

Am J Pathol. 1998;152(1):135-44

Bartek J, Vojtesek B, Staskova Z, Bartkova J, Kerekes Z, Rejthar A, Kovarik J

A series of 14 new monoclonal antibodies to keratins: characterization and value in diagnostic histopathology.

J Pathol. 1991;164(3):215-24

Barth PJ, Koch S, Muller B, Unterstab F, von Wichert P, Moll R

Proliferation and number of Clara cell 10-kDa protein (CC10)-reactive epithelial cells and basal cells in normal, hyperplastic and metaplastic bronchial mucosa.

Virchows Arch. 2000;437(6):648-55

Bechmann S, Vieth M, Stolte M, Moll R

Cytokeratins and cell-cell adhesion molecules in Barrett's esophagus: Implications for its histogenesis.

Pathol Res Pract. 2003;199:268-9

Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF Jr

Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia.

JAMA. 1991;265(10):1287-9

Boch JA, Shields HM, Antonioli DA, Zwas F, Sawhney RA, Trier JS

Distribution of cytokeratin markers in Barrett's specialized columnar epithelium.

Gastroenterology. 1997;112(3):760-5

Böcker W, Denk H, Heitz PU

Pathologie.

Urban und Schwarzenberg; 1997

Böcker W, Moll R, Poremba C, Holland R, Van Diest PJ, Dervan P, Burger H, Wai D, Ina Diallo R, Brandt B, Herbst H, Schmidt A, Lerch MM, Buchwallow IB

Common adult stem cells in the human breast give rise to glandular and myoepithelial cell lineages: a new cell biological concept.

Lab Invest. 2002;82(6):737-46

Bremner CG, Schlegel JF, Ellis FH Jr

Studies of the "gastroesophageal sphincter mechanism": the role of the phrenoesophageal membrane.

Surgery. 1970;67(5):735-40

- Butz S, Stappert J, Weissig H, Kemler R
Plakoglobin and beta-catenin: distinct but closely related.
Science. 1992;257(5073):1142-4
- Buxton RS, Cowin P, Franke WW, Garrod DR, Green KJ, King IA, Koch PJ, Magee AI, Rees DA, Stanley JR, Steinberg MS
Nomenclature of the desmosomal cadherins.
J Cell Biol. 1993;121(3):481-3
- Cai JC, Jiang SJ, Chen ZP
Relationship between E-cadherin and growth pattern of gastric cancer and degree of cell differentiation.
Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 1994;23(3):132-4
- Chow WH, Blot WJ, Vaughan TL, Risch HA, Gammon MD, Stanford JL, Dubrow R, Schoenberg JB, Mayne ST, Farrow DC, Ahsan H, West AB, Rotterdam H, Niwa S, Fraumeni JF Jr
Body mass index and risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia.
J Natl Cancer Inst. 1998;90(2):150-5, a
- Chow WH, Blaser MJ, Blot WJ, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA, Perez-Perez GI, Schoenberg JB, Stanford JL, Rotterdam H, West AB, Fraumeni JF Jr
An inverse relation between cagA+ strains of Helicobacter pylori infection and risk of esophageal and gastric cardia adenocarcinoma.
Cancer Res. 1998;58(4):588-90, b
- Cowin P, Kapprell HP, Franke WW, Tamkun J, Hynes RO
Plakoglobin: a protein common to different kinds of intercellular adhering junctions.
Cell. 1986;46(7):1063-73
- Damjanov I, Osborn M, Miettinen M
Keratin 7 is a marker for a subset of trophoblastic cells in human germ cell tumors.
Arch Pathol Lab Med. 1990;114(1):81-3
- Demirkesen C, Hoede N, Moll R
Epithelial markers and differentiation in adnexal neoplasms of the skin: an immunohistochemical study including individual cytokeratins.
J Cutan Pathol. 1995;22(6):518-35
- Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF Jr
Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States.
Cancer. 1998;83(10):2049-53
- Dodds WJ, Hogan WJ, Helm JF, Dent J
Pathogenesis of reflux esophagitis.
Gastroenterology. 1981;81(2):376-94
- Dresner SM, Griffin SM, Wayman J, Bennett MK, Hayes N, Raimes SA
Human model of duodenogastro-oesophageal reflux in the development of Barrett's metaplasia.
Br J Surg. 2003;90(9):1120-8
- Eda A, Osawa H, Satoh K, Yanaka I, Kihira K, Ishino Y, Mutoh H, Sugano K
Aberrant expression of CDX2 in Barrett's epithelium and inflammatory esophageal mucosa.
J Gastroenterol. 2003;38(1):14-22

Elster K

Morphologie der Refluxösophagitis.

Langenbecks Arch Chir. 1978;347:267-70

Fahmy N, King JF

Barrett's esophagus: an acquired condition with genetic predisposition.

Am J Gastroenterol. 1993;88(8):1262-5

Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann GN, Lantz PE, Listrom MB, Rilke FO

Gastrointestinal Pathology, an Atlas and Text.

Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, 1998, Second Edition

Filipe MI, Jass JR

Intestinal metaplasia subtypes and cancer risk.

Filipe MI, Jass JR (eds) Gastric Carcinoma 1986. Edinburgh London Melbourne New York: Churchill Livingstone

Filipe MI, Ramachandra S

The histochemistry of intestinal mucines; changes and disease.

Whitehead R (ed) Gastrointestinal and Esophageal Pathology 2nd edn 1995. Churchill Livingstone, Edinburgh Hong Kong London Madrid Melbourne New York 73-95

Fisher RS, Bromer MQ, Thomas RM, Cohen S, Krevsky B, Horwitz B, Glazier KD, Das K, Das KM

Predictors of recurrent specialized intestinal metaplasia after complete laser ablation.

Am J Gastroenterol. 2003;98(9):1945-51

Gammon MD, Schoenberg JB, Ahsan H, Risch HA, Vaughan TL, Chow WH, Rotterdam H, West AB, Dubrow R, Stanford JL, Mayne ST, Farrow DC, Niwa S, Blot WJ, Fraumeni JF Jr

Tobacco, alcohol, and socioeconomic status and adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia.

J Natl Cancer Inst. 1997;89(17):1277-84

Garrod D, Chidgey M, North A

Desmosomes: differentiation, development, dynamics and disease.

Curr Opin Cell Biol. 1996;8(5):670-8

Gillen P, Keeling P, Byrne PJ, West AB, Hennessy TP

Experimental columnar metaplasia in the canine oesophagus.

Br J Surg. 1988;75(2):113-5

Gillen P, McDermott M, Grehan D, Hourihane DO, Hennessy TP

Proliferating cell nuclear antigen in the assessment of Barrett's mucosa.

Br J Surg. 1994;81(12):1766-8

Glickman JN, Wang H, Das KM, Goyal RK, Spechler SJ, Antonioli D, Odze RD

Phenotype of Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the distal esophagus and gastroesophageal junction: an immunohistochemical study of cytokeratins 7 and 20, Das-1 and 45 MI.

Am J Surg Pathol. 2001;25(1):87-94, a

Glickman JN, Chen YY, Wang HH, Antonioli DA, Odze RD

Phenotypic characteristics of a distinctive multilayered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus.

Am J Surg Pathol. 2001;25(5):569-78, b

Goldman MC, Beckman RC

Barrett syndrome. Case report with discussion about concepts of pathogenesis.

Gastroenterology. 1960;39:104-10

Griffin M, Sweeney EC

The relationship of endocrine cells, dysplasia and carcinoembryonic antigen in Barrett's mucosa to adenocarcinoma of the oesophagus.

Histopathology. 1987;11(1):53-62

Guelstein VI, Tchypysheva TA, Ermilova VD, Litvinova LV, Troyanovsky SM, Bannikov GA

Monoclonal antibody mapping of keratins 8 and 17 and of vimentin in normal human mammary gland, benign tumors, dysplasias and breast cancer.

Int J Cancer. 1988;42(2):147-53

Hage E, Pedersen SA

Morphological characteristics of the columnar epithelium lining the lower oesophagus in patients with Barrett's syndrome.

Virchows Arch A Pathol Pathol Anat. 1972;357(3):219-29

Hamilton SR, Smith RR

The relationship between columnar epithelial dysplasia and invasive adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus.

Am J Clin Pathol. 1987;87(3):301-12

Hanby AM, Poulsom R, Singh S, Jankowski J, Hopwood D, Elia G, Rogers L, Patel K, Wright NA

Hyperplastic polyps: a cell lineage which both synthesizes and secretes trefoil-peptides and has phenotypic similarity with the ulcer-associated cell lineage.

Am J Pathol. 1993;142(3):663-8

Heid HW, Schmidt A, Zimbelmann R, Schafer S, Winter-Simanowski S, Stumpp S, Keith M, Figge U, Schnolzer M, Franke WW

Cell type-specific desmosomal plaque proteins of the plakoglobin family: plakophilin 1 (band 6 protein).

Differentiation. 1994;58(2):113-31

Heilmann KL

Gastritis – Intestinale Metaplasie – Karzinome.

Thieme 1978, Stuttgart

Heitmann P

Lower esophagus lined with columnar epithelium

Handbuch der inneren Medizin, H. Schwiegk, Springer 1974, Band III/1;525-37, Berlin Heidelberg New York

Herrmann H, Aebi U

Structure, assembly, and dynamics of intermediate filaments.

Subcell Biochem. 1998;31:319-62

Iascone C, DeMeester TR, Little AG, Skinner DB

Barrett's esophagus. Functional assessment, proposed pathogenesis, and surgical therapy.

Arch Surg. 1983;118(5):543-9

- Jackson BW, Grund C, Schmid E, Burki K, Franke WW, Illmensee K
Formation of cytoskeletal elements during mouse embryogenesis. Intermediate filaments of the cytokeratin type and desmosomes in preimplantation embryos.
Differentiation. 1980;17(3):161-79
- Jackson BW, Grund C, Winter S, Franke WW, Illmensee K
Formation of cytoskeletal elements during mouse embryogenesis. II. Epithelial differentiation and intermediate-sized filaments in early postimplantation embryos.
Differentiation. 1981;20(3):203-16
- Jankowski JA, Newham PM, Kandemir O, Hirano S, Takeichi M
Differential expression of E-cadherin in normal, metaplastic and dysplastic mucosa: a putative biomarker
Int J Oncol. 1994;4:441-8
- Jankowski JA, Harrison RF, Perry I, Balkwill F, Tselepis C
Barrett's metaplasia.
Lancet. 2000;356(9247):2079-85
- Karsten U, Papsdorf G, Roloff G, Stolley P, Abel H, Walther I, Weiss H
Monoclonal anti-cytokeratin antibody from a hybridoma clone generated by electrofusion.
Eur J Cancer Clin Oncol. 1985;21(6):733-40
- Koch PJ, Walsh MJ, Schmelz M, Goldschmidt MD, Zimbelmann R, Franke WW
Identification of desmoglein, a constitutive desmosomal glycoprotein, as a member of the cadherin family of cell adhesion molecules.
Eur J Cell Biol. 1990;53(1):1-12
- Kumagai H, Mukaisho K, Sugihara H, Bamba M, Miyashita T, Miwa K, Hattori T
Cell kinetic study on histogenesis of Barrett's esophagus using rat reflux model.
Scand J Gastroenterol. 2003;38(7):687-92
- Kurzen H, Moll I, Moll R, Schafer S, Simics E, Amagai M, Wheelock MJ, Franke WW
Compositionally different desmosomes in the various compartments of the human hair follicle.
Differentiation. 1998;63(5):295-304
- Lambert R
The role of endoscopy in the prevention of esophagogastric cancer.
Endoscopy. 1999;31(2):180-99
- Lee RG
Mucins in Barrett's esophagus: a histochemical study.
Am J Clin Pathol. 1984;81(4):500-3
- Lee RG
Dysplasia in Barrett's esophagus. A clinicopathologic study of six patients.
Am J Surg Pathol. 1985;9(12):845-52
- Levine DS, Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Rabinovitch PS
Correlation of ultrastructural aberrations with dysplasia and flow cytometric abnormalities in Barrett's epithelium.
Gastroenterology. 1989;96(2 Pt 1):355-67

- Li H, Walsh TN, O'Dowd G, Gillen P, Byrne PJ, Hennessy TP
Mechanisms of columnar metaplasia and squamous regeneration in experimental Barrett's esophagus.
Surgery. 1994;115(2):176-81
- Menke-Pluymers MB, Schoute NW, Mulder AH, Hop WC, van Blankenstein M, Tilanus HW
Outcome of surgical treatment of adenocarcinoma in Barrett's oesophagus.
Gut. 1992;33(11):1454-8
- Mertens C, Kuhn C, Franke WW
Plakophilins 2a and 2b: constitutive proteins of dual location in the karyoplasm and the desmosomal plaque.
J Cell Biol. 1996;135(4):1009-25
- Mertens C, Kuhn C, Moll R, Schwetlick I, Franke WW
Desmosomal plakophilin 2 as a differentiation marker in normal and malignant tissues.
Differentiation. 1999;64(5):277-90
- Ming SC
Intestinal Metaplasia: its heterogenous nature and significance.
Ming (ed) Precursor of Gastric Cancer 1994. Praeger New York, 219-31
- Mingchao, Devereux TR, Stockton P, Sun K, Sills RC, Clayton N, Portier M, Flake G
Loss of E-cadherin expression in gastric intestinal metaplasia and later stage p53 altered expression in gastric carcinogenesis.
Exp Toxicol Pathol. 2001;53(4):237-46
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R
The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells.
Cell. 1982;31(1):11-24. Review
- Moll R, Achtstatter T, Becht E, Balcarova-Stander J, Ittensohn M, Franke WW
Cytokeratins in normal and malignant transitional epithelium. Maintenance of expression of urothelial differentiation features in transitional cell carcinomas and bladder carcinoma cell culture lines.
Am J Pathol. 1988;132(1):123-44
- Moll R, Lowe A, Laufer J, Franke WW
Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies.
Am J Pathol. 1992;140(2):427-47
- Moll R
Molecular diversity of cytokeratins: significance for cell and tumor differentiation.
Acta Histochem Suppl. 1991;41:117-27
- Moll R
Cytokeratins as markers of differentiation. Expression profiles in epithelia and epithelial tumors.
Veroff Pathol. 1993;142:1-197
- Moll R, Mitze M, Frixen UH, Birchmeier W
Differential loss of E-cadherin expression in infiltrating ductal and lobular breast carcinomas.
Am J Pathol. 1993;143(6):1731-42

Moll R, Schafer S, Koch PJ

Molecular diversity of desmosomal cadherins and their potential as markers in the histodiagnosis of carcinomas.

Verh Dtsch Ges Pathol. 1994;78:277-84

Moll R

Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors.

Subcell Biochem. 1998;31:205-62

Morris CD, Tselepis C, Harrison R, Chidgey MA, Attwood SA, Garrod D, Jankowski JA

Abnormal expression and function of desmosomal cadherins in the neoplastic progression of Barrett's esophagus.

Gastroenterology. 2001;120:412

Nagle RB

A review of intermediate filament biology and their use in pathologic diagnosis.

Mol Biol Rep. 1994;19(1):3-21

van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, van de Molengraft F, Poels LG

Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues.

J Pathol. 1991;165(2):145-52

Nishimaki T, Holscher AH, Schuler M, Bollschweiler E, Becker K, Siewert JR

Histopathologic characteristics of early adenocarcinoma in Barrett's esophagus.

Cancer. 1991;68(8):1731-6

Nishimaki T, Holscher AH, Schuler M, Becker K, Muto T, Siewert JR

Chronic esophagitis and subsequent morphological changes of the esophageal mucosa in Barrett's esophagus: a histological study of esophagectomy specimens.

Surg Today. 1994;24(3):203-9

Nuber UA, Schafer S, Schmidt A, Koch PJ, Franke WW

The widespread human desmocollin Dsc2 and tissue-specific patterns of synthesis of various desmocollin subtypes.

Eur J Cell Biol. 1995;66(1):69-74

Nuber UA, Schafer S, Stehr S, Rackwitz HR, Franke WW

Patterns of desmocollin synthesis in human epithelia: immunolocalization of desmocollins 1 and 3 in special epithelia and in cultured cells.

Eur J Cell Biol. 1996;71(1):1-13

Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Vaezi MF, Gramlich TL

Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach.

Hum Pathol. 1999;30(3):288-94

Ormsby AH, Vaezi MF, Richter JE, Goldblum JR, Rice TW, Falk GW, Gramlich TL

Cytokeratin immunoreactivity patterns in the diagnosis of short-segment Barrett's esophagus.

Gastroenterology. 2000;119(3):683-90

Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, Richter JE, Gramlich TL

The utility of cytokeratin subsets in distinguishing Barrett's-related oesophageal adenocarcinoma from gastric adenocarcinoma.

Histopathology. 2001;38(4):307-11

- Ozawa S, Ando N, Kitagawa Y, Ueda M, Kitajima M
Molecular alterations in Barrett's esophagus and adenocarcinoma.
Nippon Geka Gakkai Zasshi. 1999;100(3):235-9
- Palley SL, Sampliner RE, Garewal HS
Management of high-grade dysplasia in Barrett's esophagus.
J Clin Gastroenterol. 1989;11(4):369-72
- Paull A, Trier JS, Dalton MD, Camp RC, Loeb P, Goyal RK
The histologic spectrum of Barrett's esophagus.
N Engl J Med. 1976;295(9):476-80
- Peitz U, Vieth M, Pross M, Leodolter A, Malfertheiner P
Cardia-type metaplasia arising in the remnant esophagus after cardia resection.
Gastrointest Endosc. 2004;59(7):810-7
- Peters FT, Ganesh S, Kuipers EJ, Sluiter WJ, Klinkenberg-Knol EC, Lamers CB, Kleibeuker JH
Endoscopic regression of Barrett's oesophagus during omeprazole treatment; a randomised double blind study.
Gut. 1999 Oct;45(4):489-94
- Phillips RW, Frierson HF Jr, Moskaluk CA
Cdx2 as a marker of epithelial intestinal differentiation in the esophagus.
Am J Surg Pathol. 2003;27(11):1442-7
- Purkis PE, Steel JB, Mackenzie IC, Nathrath WB, Leigh IM, Lane EB
Antibody markers of basal cells in complex epithelia.
J Cell Sci. 1990;97 (Pt 1):39-50
- Ramaekers F, van Niekerk C, Poels L, Schaafsma E, Huijsmans A, Robben H, Schaart G, Vooijs P
Use of monoclonal antibodies to keratin 7 in the differential diagnosis of adenocarcinomas.
Am J Pathol. 1990;136(3):641-55
- Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, Roth G, Surawicz CM, Van Belle G, Lewin K, Weinstein WM, Antonioli DA, Goldman H, et al.
Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus.
Hum Pathol. 1988;19(2):166-78
- Rudolph RE, Vaughan TL, Storer BE, Haggitt RC, Rabinovitch PS, Levine DS, Reid BJ
Effect of segment length on risk for neoplastic progression in patients with Barrett esophagus.
Ann Intern Med. 2000;132(8):612-20
- Salo JA, Kivilaakso EO, Kiviluoto TA, Virtanen IO
Cytokeratin profile suggests metaplastic epithelial transformation in Barrett's oesophagus.
Ann Med. 1996;28(4):305-9
- Sampliner RE
Practice guidelines on the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology.
Am J Gastroenterol. 1998;93(7):1028-32

- Sawhney RA, Shields HM, Allan CH, Boch JA, Trier JS, Antonioli DA
Morphological characterization of the squamocolumnar junction of the esophagus in patients with and without Barrett's epithelium.
Dig Dis Sci. 1996;41(6):1088-98
- Schäfer S, Koch PJ, Franke WW
Identification of the ubiquitous human desmoglein, Dsg2, and the expression catalogue of the desmoglein subfamily of desmosomal cadherins.
Exp Cell Res. 1994;211(2):391-9
- Schäfer S, Stumpp S, Franke WW
Immunological identification and characterization of the desmosomal cadherin Dsg2 in coupled and uncoupled epithelial cells and in human tissues.
Differentiation. 1996;60(2):99-108
- Schäfer S, Nuber UA, Moll R, Franke WW
Desmosomes and hemidesmosomes: differences and similarities in skin and mucosae
Oculodermal Diseases, Pleyer U, Hartmann C, Sterry W, eds./ Aelous Press, Buren, Netherlands, 1997
- Schmidt A, Heid HW, Schafer S, Nuber UA, Zimbelmann R, Franke WW
Desmosomes and cytoskeletal architecture in epithelial differentiation: cell type-specific plaque components and intermediate filament anchorage.
Eur J Cell Biol. 1994;65(2):229-45
- Schmidt A, Langbein L, Pratzel S, Rode M, Rackwitz HR, Franke WW
Plakophilin 3 - a novel cell-type-specific desmosomal plaque protein.
Differentiation. 1999;64(5):291-306
- Schmidt HG, Riddell RH, Walther B, Skinner DB, Riemann JF
Dysplasia in Barrett's esophagus.
J Cancer Res Clin Oncol. 1985;110(2):145-52
- Seery JP, Syrigos KN, Karayiannakis AJ, Valizadeh A, Pignatelli M
Abnormal expression of the E-cadherin-catenin complex in dysplastic Barrett's oesophagus.
Acta Oncol. 1999;38(7):945-8
- Sharma P
Helicobacter pylori: a debated factor in gastroesophageal reflux disease.
Dig Dis. 2001;19(2):127-33
- Shen B, Ormsby AH, Shen C, Dumot JA, Shao YW, Bevins CL, Gramlich TL
Cytokeratin expression patterns in noncardia, intestinal metaplasia-associated gastric adenocarcinoma: implication for the evaluation of intestinal metaplasia and tumors at the esophagogastric junction.
Cancer. 2002;94(3):820-31
- Shino Y, Watanabe A, Yamada Y, Tanase M, Yamada T, Matsuda M, Yamashita J, Tatsumi M, Miwa T, Nakano H
Clinicopathologic evaluation of immunohistochemical E-cadherin expression in human gastric carcinomas.
Cancer. 1995;76(11):2193-201

- Shields HM, Zwas F, Antonioli DA, Doos WG, Kim S, Spechler SJ
Detection by scanning electron microscopy of a distinctive esophageal surface cell at the junction of squamous and Barrett's epithelium.
Dig Dis Sci. 1993;38(1):97-108
- Shiozaki H, Tahara H, Oka H, Miyata M, Kobayashi K, Tamura S, Iihara K, Doki Y, Hirano S, Takeichi M, et al.
Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers.
Am J Pathol. 1991;139(1):17-23
- Siewert JR, Stein HJ
Classification of adenocarcinoma of the oesophagogastric junction.
Br J Surg. 1998;85(11):1457-9
- Silva S, Filipe MI
Intestinal metaplasia and its variants in the gastric mucosa of Portuguese subjects: a comparative analysis of biopsy and gastrectomy material.
Hum Pathol. 1986;17(10):988-95
- Silva S, Filipe MI, Pinho A
Variants of intestinal metaplasia in the evolution of chronic atrophic gastritis and gastric ulcer. A follow up study.
Gut. 1990;31(10):1097-104
- Sjogren RW Jr, Johnson LF
Barrett's esophagus: a review.
Am J Med. 1983;74(2):313-21
- Stolte M
Helicobacter pylori spectrum: from gastritis to malignancy.
Leber Magen Darm. 1992;22(3):91-4
- Stosiek P, Brautigam E, Kasper M
Expression of cytokeratin 7 in human glandular epithelium of fetal stomach.
Acta Histochem. 1991;91(1):21-3
- Swami S, Kumble S, Triadafilopoulos G
E-cadherin expression in gastroesophageal reflux disease, Barrett's esophagus, and esophageal adenocarcinoma: an immunohistochemical and immunoblot study.
Am J Gastroenterol. 1995;90(10):1808-13
- Sun TT, Tseng SC, Huang AJ, Cooper D, Schermer A, Lynch MH, Weiss R, Eichner R
Monoclonal antibody studies of mammalian epithelial keratins: a review.
Ann N Y Acad Sci. 1985;455:307-29
- Takubo K, Sasajima K, Yamashita K, Tanaka Y, Fujita K
Double muscularis mucosae in Barrett's esophagus.
Hum Pathol. 1991;22(11):1158-61
- Takeichi M
Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator.
Science. 1991;251(5000):1451-5

Tatsuta M, Okuda S, Taniguchi H, Tamura H

Relation of intestinal metaplasia to the acid-secreting area.

Endoscopy. 1979;11(3):166-71

Vieht M, Gossner L, Stolte M

Volkskrankheit Reflux.

Leber Magen Darm. 2000;30:1-28; Supplementum II

Washington K, Chiappori A, Hamilton K, Shyr Y, Blanke C, Johnson D, Sawyers J, Beauchamp D

Expression of beta-catenin, alpha-catenin, and E-cadherin in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinomas.

Mod Pathol. 1998;11(9):805-13

Wijnhoven BP, Tilanus HW, Dinjens WN

Molecular biology of Barrett's adenocarcinoma.

Ann Surg. 2001;233(3):322-37

Wright NA

Migration of the ductular elements of gut-associated glands gives clues to the histogenesis of structures associated with responses to acid hypersecretory state: the origins of "gastric metaplasia" in the duodenum of the specialized mucosa of barrett's esophagus and of pseudopyloric metaplasia.

Yale J Biol Med. 1996;69(2):147-53

Zhang ZF, Kurtz RC, Marshall JR

Cigarette smoking and esophageal and gastric cardia adenocarcinoma.

J Natl Cancer Inst. 1997;89(17):1247-9

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1.: Überwachungsstrategie des Barrett-Ösophagus.....	10
Tabelle 2.1. Antikörpertabelle	32
Tabelle 3.1: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8.....	41
Tabelle 3.2: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18	43
Tabelle 3.3: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 8: CAM 5.2, Cytokeratin 18: Ks 18.04, Cytokeratin 19: Ks 19.1.....	45
Tabelle 3.4: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 17: E3	46
Tabelle 3.5: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 5: D5 /16B4	47
Tabelle 3.6: Barrettmukosa ohne Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1; 5H9.....	48
Tabelle 3.7: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36	51
Tabelle 3.8: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150	54
Tabelle 3.9: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8	58
Tabelle 3.10: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18	60
Tabelle 3.11: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 17: E3.....	63
Tabelle 3.12: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1, 5H9.....	65
Tabelle 3.13: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36	68
Tabelle 3.14: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150.....	71
Tabelle 3.15: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8.....	75
Tabelle 3.16: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18	76
Tabelle 3.17: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 18: Ks 18.04	78
Tabelle 3.18: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 17: E3.....	79
Tabelle 3.19: Barrett-Karzinom; E-Cadherin: 5H9	81
Tabelle 3.20: Barrett-Karzinom; Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36	82
Tabelle 3.21: Barrett-Karzinom; Plakophilin 2: PP2/150	84

Tabelle 3.22: Magenschleimhaut; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8.....	96
Tabelle 3.23: Magenschleimhaut; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18	97
Tabelle 3.24: Magenschleimhaut; Cytokeratin 8: CAM 5.2; Cytokeratin 18: Ks 18.04; Cytokeratin 19: Ks 19.1.....	98
Tabelle 3.25: Magenschleimhaut; Cytokeratin 17: E3.....	99
Tabelle 3.26: Magenschleimhaut; E-Cadherin: HECD-1, 5H9	100
Tabelle 3.27: Magenschleimhaut; Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36	100
Tabelle 3.28: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8	102
Tabelle 3.29: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30, Ks 7.18	103
Tabelle 3.30: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 8: CAM 5.2; Cytokeratin 18: Ks 18.04; Cytokeratin 19: Ks 19.1...	103
Tabelle 3.31: Intestinale Metaplasie; Cytokeratin 17: E3	104
Tabelle 3.32: Intestinale Metaplasie; E-Cadherin: HECD-1, 5H9.....	105
Tabelle 3.33: Intestinale Metaplasie; Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36	105
Tabelle 3.34: Intestinale Metaplasie; Plakophilin 2: PP2/150.....	106
Tabelle 3.35: Dünndarmschleimhaut; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8.....	107
Tabelle 3.36: Dünndarmschleimhaut; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30.....	108
Tabelle 3.37: Dünndarmschleimhaut; Cytokeratin 17: E3.....	108
Tabelle 3.38: Dünndarmschleimhaut; E-Cadherin: HECD-1, 5H9	109
Tabelle 3.39: Dünndarmschleimhaut; Desmoglein 2: Dsg2-G 129; Desmocollin 2: rab 36	109
Tabelle 3.40: Dünndarmschleimhaut; Plakophilin 2: PP2/150	110
Tabelle 3.41: Cytokeratine des Spezial-Falles.....	111
Tabelle 3.42: Adhäsionsmoleküle des Spezial-Falles	112
Tabelle 3.43: Komplettübersicht der Ergebnisse	115
Tabelle 4.1: Vergleich von Cytokeratinen im Barrettepithel der vorliegenden Arbeit mit Boch et al.1997 und Glickman et al., 2001	125
Tabelle 4.2: Übersicht der Desmogleine in den untersuchten Geweben	135
Tabelle 4.3: Übersicht der Desmocolline in den untersuchten Geweben.....	135

Graphikverzeichnis

Graphik 3.1: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 20, IT-Ks 20.8	42
Graphik 3.2: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30	44
Graphik 3.3: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 7: Ks 7.18	44
Graphik 3.4: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Cytokeratin 17: E3	46
Graphik 3.5: Barrettmukosa ohne Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1	49
Graphik 3.6: Barrettmukosa ohne Dysplasie; E-Cadherin: 5H9	50
Graphik 3.7: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Desmoglein 2: Dsg2-G 129	52
Graphik 3.8: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Desmocollin 2: rab 36	53
Graphik 3.9: Barrettmukosa ohne Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150	54
Graphik 3.10: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8	59
Graphik 3.11: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30	61
Graphik 3.12: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 7: Ks 17.18	62
Graphik 3.13: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Cytokeratin 17: E3	63
Graphik 3.14: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; E-Cadherin: HECD-1 ..	66
Graphik 3.15: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; E-Cadherin: 5H9	67
Graphik 3.16: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Desmoglein 2: Dsg2-G 129	69
Graphik 3.17: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Desmocollin 2: rab 36	70
Graphik 3.18: Barrettmukosa mit low-grade Dysplasie; Plakophilin 2: PP2/150	71
Graphik 3.19: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 20: IT-Ks 20.8	75
Graphik 3.20: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 7: OV-TL 12/30	76
Graphik 3.21: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 7: Ks 7.18	77
Graphik 3.22: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 18: Ks 18.04	78
Graphik 3.23: Barrett-Karzinom; Cytokeratin 17: E3	79
Graphik 3.24: Barrett-Karzinom; E-Cadherin: 5H9	81
Graphik 3.25: Barrett-Karzinom; Desmoglein 2: Dsg2-G 129	83
Graphik 3.26: Barrett-Karzinom; Desmocollin 2: rab 36	83

Graphik 3.27: Barrett-Karzinom; Plakophilin 2: PP2/150	84
--	----

Bildtafelverzeichnis

Bildtafel 1, A-H: Barrett-Ösophagus ohne Dysplasie	55
Bildtafel 1, I-P: Barrett- Ösophagus ohne Dysplasie	56
Bildtafel 1, Q-X: Barrett- Ösophagus ohne Dysplasie	57
Bildtafel 2, A-H: Low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus.....	72
Bildtafel 2, I-P: Low-grade Dysplasie des Barrett-Ösophagus	73
Bildtafel 3, A-F: Barrett-Karzinom	85
Bildtafel 3, G-L: Barrett-Karzinom	86
Bildtafel 4, A-H: Fötaler Ösophagus	93
Bildtafel 4, I-M: Fötaler Ösophagus	94
Bildtafel 4, O-V: Fötaler Ösophagus	95
Bildtafel 5, A-F: Spezial-Fall.....	113

Abkürzungsverzeichnis

B	Basalschicht
BE	Barretteepithel
ca.	circa
CA	Barrettadenokarzinom
CK	Cytokeratin
DD	Dünndarm
Dsc	Desmocollin
Dsg	Desmoglein
E-Cad	E-Cadherin
FÖ	fötaler Ösophagus
GM	Gesamtmukosa
HE	Hämatoxylin-Eosin
I	Intermediärschicht
IM	intestinale Metaplasie
incl.	inclusive
i.S.	im Sinne
KZ	Kryptenzone
LGD	low-grade Dysplasie
m	männlich
M	Membran
MA	foveoläres Magenepithel
Membr.	Membran
MG	Molekulargewicht
n	Fallzahl
Nr.	Nummer
n.u.	nicht untersucht
L	Luminalschicht
OZ	Oberflächenzone
PAS	Periodic acid Schiff
PBS	Phosphat-buffered saline
PE	Plattenepithel
PKP	Plakophilin

SP	Spezialfall
sog.	sogenannte
TBS	Tris-buffered saline
unvrd.	unverdünnt
w	weiblich
Z	Zytoplasma
z.B.	zum Beispiel

Veröffentlichung

Teile der vorliegenden Arbeit wurden als wissenschaftlicher Tagungsvortrag mit publiziertem Abstract präsentiert:

S. Bechmann, M. Vieth, M. Stolte, R. Moll

Cytokeratine und Zell-Zell-Adhäsionsmoleküle im Barrett-Ösophagus:

Folgerungen zu seiner Histogenese

87. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Bamberg, 11. - 14. Juni 2003

Bechmann S, Vieth M, Stolte M, Moll R

Cytokeratins and cell-cell adhesion molecules in Barrett's esophagus:

Implications for its histogenesis.

Pathol Res Pract. 2003;199:268-9

Meine akademischen Lehrer in Marburg:

Prof. Dr. med. R. Arnold

Prof. Dr. T. Bach

Prof. Dr. med. P.J. Barth

Prof. Dr. Dr. med. H.D. Basler

Prof. Dr. med. E. Baum

PD Dr. med. H. Becker

PD Dr. med. H.J. Beyer

PD Dr. med. H. Christiansen

Prof. Dr. med. P. Czekelius

Prof. Dr. Dr. J. Daut

Prof. Dr. med. M. Eilers

Prof. Dr. med. A. Geuss

Prof. Dr. med. L. Gotzen

Prof. Dr. med. P. Griss

Prof. Dr. med. R. Happle

PD Dr. med. A. Hellinger

PD Dr. rer. nat. U. Herz

PD Dr. med. L. Hesse

Prof. Dr. med. R. Hofmann

Prof. Dr. med. H. Jungclas

Prof. Dr. med. H.F. Kern

Prof. Dr. med. H.D. Klenk

Prof. Dr. med. J.C. Krieg

Prof. Dr. med. P. Kroll

Prof. Dr. med. E. Lammel

Prof. Dr. med. R.E. Lang

Prof. Dr. med. R. Moll

Prof. Dr. med. R. Mutters

Prof. Dr. W.H. Oertel

Prof. Dr. Dr. med. Remschmidt

Prof. Dr. med. H. Renz

Prof. Dr. H. Schäfer
Prof. Dr. med. S. Schmidt
Prof. Dr. med. H.J. Seyberth
Prof. Dr. med. B. Steiniger
Prof. Dr. med. G. Sturm
Prof. Dr. med. G. Suske
Dr. med. H.-W. Vohland
Prof. Dr. med. H. Werner
Prof. Dr. med. R. Westermann
Prof. Dr. med. H. Wulf

in München:

Prof. Dr. med. A. Bergaus
Prof. Dr. med. W. Mutschler
Prof. Dr. med. D. Schlöndorff

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Humanmedizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Der Barrett-Ösophagus: Immunhistochemische Untersuchungen zu Cytokeratinen und Zell-Zell-Adhäsionsmolekülen in Bezug auf Histogenese und Dysplasie-Karzinom-Sequenz“ im Institut für Pathologie unter der Leitung von Prof. Dr. Roland Moll ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, den

Unterschrift

Danksagung

Mein Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. Roland Moll für die intensive Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit, für sein Interesse an der Forschung, den Diskussionen und Hilfestellungen, mit denen er diese Arbeit möglich gemacht hat.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Dr. Matthias Vieth, der mit seinem Interesse und Engagement im Bereich der Barrett-Forschung mit Tat und Wissen zur Seite stand.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Anke Holzbach und Sabine Koch danke ich für ihre labortechnische und menschliche Unterstützung. Die Zeit der Laborarbeit wurde durch sie zu einer beschwingt lustigen „Freizeitbeschäftigung“ mit nie endenden Gesprächsthemen. Auch Frau Viktoria Morokina möchte ich für die Hilfe bei der Bearbeitung meiner Präparate danken.

Bei Herrn Dr. Ansgar Schmidt möchte ich mich für fachlichen und menschlichen Beistand bedanken.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mir mit ihrer finanziellen und vor allem persönlichen Unterstützung die Erstellung dieser Arbeit ermöglicht haben. Meinem Bruder Dr. Martin Bechmann danke ich für Hilfestellungen jeglicher Art. Daniela Degen für die Korrektur der Rechtschreibung und Grammatik. Last but not least bedanke ich mich bei Cathrin Hertel und Till Fischborn für die ausdauernde und aufmunternde Begleitung in dieser Zeit, mit so manch hilfreichen und nutzlosem Gespräch versüßt.

Curriculum vitae

Fischborn Sonja

Geborene	Bechmann in Augsburg, den 22. März 1977
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Familienstand	Verheiratet
Familie	Georg Till Elof Fischborn, Arzt Jürgen Bechmann, Bauingenieur Sylvia Bechmann, Selbstständig Bruder Dr. med. Martin Bechmann, Arzt

Schulbildung

1983-1987	Grundschule Hochzoll-Nord Augsburg
1987-1993	Rudolf- Diesel- Gymnasium Augsburg
1993-1996	Hohlbein- Gymnasium
28.06.1996	Allgemeine Hochschulreife, Note gut

Hochschulbildung

1996-1997	Universität- Augsburg, Fachrichtung Kunstgeschichte
10.1997	Philipps- Universität Marburg, Fachrichtung Humanmedizin
07.2000	Beginn einer experimentellen Dissertation am pathologischen Institut der Philipps-Universität Marburg unter der Leitung von Prof. Dr. Roland Moll
03.2000	Ärztliche Vorprüfung
03.2001	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09.2003	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10.2003	Beginn des Praktischen Jahres an der Ludwig-Maximilian-Universität München
11.2004	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung, Gesamtnote gut

Facharztweiterbildung

03.-12.2005	Assistenzärztin HNO-Belegarztpraxis Dr. Sauer, München
seit 01.2006	Assistenzärztin HNO-Heilkunde Klinikum München Pasing

